



N° d'ordre :
N° de série :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE D'EL-OUED
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Licence Académique

Filière : Biochimie

Spécialité : Toxicologie

THEME

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DES EFFET
TOXIQUES DES RESIDUS DES ANTIBIOTIQUES
DANS LA VIANDE BLANCHE**

Dirigé par : Dr. HAMAD Brahim

Présenter par :

-MANSOURI Rahma
-MAKAOUI Kinza
-MESSAOUDI Naima
-YOUSFI Sameh

Année universitaire 2013/2014

Remerciement

Il est rare qu'un travail soit le fruit d'une seule personne, et celui-ci ne fait pas parti des exceptions, aussi qui nous soit permis d'exprimer nos profonde reconnaissance et nos remerciements les plus sincères à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à sa réalisation, nous tenons à remercier :

En premier lieu, nous exprimons toute ma gratitude à mon promoteur Dr.HAMAD Brahim pour sa disponibilité et son aide précieux.

Mes vifs remerciements vont plus particulièrement au Mme. HADEF Leila pour son aide précieux, ses conseils et sa disponibilité.

Mes vifs remerciements vont plus particulièrement au Mr.DEROUICH Samir pour son aide précieuse, ses conseils et sa gentillesse.

Je tiens également à remercier, pour leur patience, leur disponibilité et leur aide.

J'exprime toute ma gratitude aux membres du jury qui contribué à l'évaluation de cette modeste travaille

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à ceux qui m'ont soutenu, m'ont encouragé durant toute ma période d'étude, et pour leurs sacrifices consentis. A ceux qui ont toujours voulu que je sois le meilleur : ma mère Leila et mon père Massoud.

A mes grandes mères et mes grands pères

A mon cher frère : - Abdelhak et son fiancée Iman

A mes tantes : - Zohra - Zakia - Siham -Ouafa .

A mon cousin : - Chaouki.

A mes oncles: - Abdelbasset - Ali et Souad .

A tous mes chers amis : -Hayat .

A tous les étudiants de ma promotion : Spécialité Toxicologie .

A mes collègues de licences : -Sameh - Kinza -Naima

A tous qui me connais de loin et de prés.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à ceux qui m'ont soutenu, m'ont encouragé durant toute ma période d'étude, et pour leurs sacrifices consentis. A ceux qui ont toujours voulu que je sois le meilleur : A ma mère et mon père.

A mes mères :.bechira

A mes pères :. el hadi

A tous mes chers frères :.Zakaria,hessine,hassan,saddam,nasro

A toutes mes sœurs :Thouria et son mari houssam et sa fille rettadje,et sœur Halima

A toutes mes tantes

A toutes mes oncles

A tous mes chers amis :.naima.serine,hanane negaaz,sameh,rahma,djemaa,souhiyla,masouda,

Nawal,khaoula,Djihade,soumaia belloule,saida

A tous les étudiants de ma promotion :3ème toxicologie

Je vais continuer avec lui pour le reste de ma vie, mon fiancé Farouk.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à ceux qui m'ont soutenu, m'ont encouragé durant toute ma période d'étude, et pour leurs sacrifices consentis. A ceux qui ont toujours voulu que je sois le meilleur : A ma mère Zohra et mon père Mohammed .

A mes grandes mères et A mes grands pères

A tous mes chers frères :Salem , Dou, Nacer, Hocine ,Mabrouk ,Fathi .

A toutes mes sœurs : Houda , Noura ,Rekaia , Mouna .

A tous les enfants de mes frères : Azzedine ,Saïd , Abed Latif ,Abed Rahman ,Marouane ,Younes , Karima , Ahlam, Basma ,Hannona ,Hana.

A le fils de ma soeur : Abdel Bari .

A les épouses de mes frères: Oulia ,Nacira ,Bouchra .

A me tante :Fatima

A mes oncles: Ahmed ,Kouider .

A mes Inoccupés: Abdel kader ,Ahmed ,Amer.

A mes cousins et cousines.

A tous mes chers amis :Kenza, Halima ,Zohra ,Hinda , Rahma ,Samah ,Mabarka ,Amel , Zahia ,Rabiaa ...

A tous les étudiants de ma promotion de Spécialité 3ème Toxicologie.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à ceux qui m'ont soutenu, m'ont encouragé durant toute ma période d'étude, et pour leurs sacrifices consentis. A ceux qui ont toujours voulu que je sois le meilleur : A ma mère Souad et mon père .Mohammed Nacre

A mes grandes mères et mes grands pères

A tous mes chers frères :- Hicham - Yousef.

A toutes mes sœurs :- Safa - Siham - Aya et Sirien .

A mes tantes : - Zohra - Zahia - Sabrina - Hasina et Nadjoua .

A mon cousin :- Fouad - Mouldu ...

A tous mes chers amis : -Rahma -Kinza -Raja - Zohra –Naima -Nawal –Khaoula B -Djihade – Khaoula O –Raja A -Hanane.

A tous les étudiants de ma promotion: - Spécialiste Toxicologie.

A tous qui me connais de loin et de près.

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Tableau	Page
Tableau 01	Composition chimique principale du muscle	3
Tableau 02	Composition chimique (g) et valeur énergétique (kl) pour 100g de fraction comestibles des viandes de taurillon, du veau, du poulet et de la viande de lapin	3
Tableau 03	Principales espèces à l'origine de viande blanche	4
Tableau 04	Evolution de production de la viande blanche en Algérie (1977-2008)	8
Tableau 05	Date de découverte de quelques molécules d'antibiotiques naturelles	11
Tableau06	Classification d'antibiotiques suivant leur mode d'action	12
Tableau07	Utilisation de quelques antibiotiques en tant qu'additifs dans l'alimentation animale aux Etats-Unis	14
Tableau08	principales familles d'antibiotiques et leurs spectres d'activité	17
Tableau9	Anti-infectieux dont l'usage est interdit pour le traitement des animaux dont les productions sont destinées à la consommation humaine	27
Tableau 10	Délai d'attente de quelques antibiotiques.	29
Tableau 11	Résistance des bactéries aux antibiotiques	41
Tableau 12	Seuils de détection du PremirTest (microgrammes / kilo)	49
Tableau 13	Les principaux solvants utilisés en HPLC.	57
Tableau 14	Mécanismes de résistance aux antibiotiques.	78
Tableau 15	Limites maximales résiduelles (LMR) des antibiotiques exprimées en µg/kg ou ppb .	79

LISTE DES FIGURES

Numéro	Figure	Page
Figure 1	Constituants du sarcomère	6
Figure 2	Evolution de la dureté du muscle après l'abattage	7
Figure 3	Mécanisme d'action des antibiotique	15
Figure 4	Mécanismes de transferts des gènes de résistance	20
Figure 5	Le calcul du temps d'attente	30
Figure 6	Les quatre stratégies de la résistance aux antibiotiques	40
Figure 7	Test renal	48
Figure 8	Plage de couleurs de Premi Test	48
Figure 9	Test européen a 4 plaques	50
Figure 10	Principe de beta -star	51
Figure 11	Principe a) du RIA et b) du RRA	52
Figure 12	Principe c) d'ELISA	53
Figure 13	Chromatographe HPLC	56
Figure 14	Instrumentation de l'HPLC	57
Figure 15	Injecteur à boucle à gauche, le remplissage de la boucle à droite, L'injection dans la colonne	59
Figure 16	Le détecteur UV	61
Figure 17	Principe de la spectrométrie de masse	63
Figure 18	Stratégie analytiques	64
Figure 19	Structure du muscle	78

LISTE DES ABRÉVIATIONS

L'abréviation	La signification
ADN	Acide Désoxy ribo-Nucléique
AFNOR	Agence Française de Normalisation
AFSSA	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ARN	Acide Ribo-Nucléique
ARNm	Acide Ribo-Nucléique messenger
ARNr	Acide Ribo-Nucléique ribosomique
ARNt	Acides Ribo-Nucléique de transfert
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CEE	Commune Economique Européenne
CMI	Concentration Minimal Inhibitrice
CIV	Centre d'Information des Viands
DES	Doses Sans Effets
DJA	Dose Journalière Admissible
DJT	dose journalière Tolerable
DT	Dose Tolerance
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
Kg	Kilogramme
L	Litre.
LMR	Limit Maximal de Residues
MADR	Ministère d'Agriculture et de Développement Rural
Mg	Milligramme
ml	Millilitre
NAD	Nicotine Adénine Dinucléotide Oxydé / nicotine adénine = nicotinamide oxydé.

Liste des abréviations

RIA	Radio Immuno Assay
RRA	Radio-Recepteur Assay
OIE (OMSA)	Organisation Mondiale de la Santé Animale
PBP	Penicillin Binding Proteins
Ppb	Parties Par Billion (milliard)
PH	Potentiel Hydrogène
PKA	Constante de dissociation ionique
SM	Spectrométrie de Masse
Ug	Microgramme
UV	Ultra Violet
n°	Numéro
%	Pourcentage

SOMMAIRE

Introduction générale	
PREMIERE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Généralité sur la viande blanche	
I.1. Définitions	2
I.1.1. Définition de la viande.....	2
I.1.2. Définition de la viande blanche.....	2
I.2. Importance de la viande.....	2
I.3. Composition chimique de la viande.....	2
I.4. Principales espèces productrices de viande blanche.....	3
I.5. Valeur nutritive de la viande.....	4
I.5.1. La valeur énergétique.....	5
I.5.2. La valeur protidique.....	5
I.5.3. La matière grasse	5
I.6. La structure du muscle.....	5
I.7. La transformation des muscles en viande.....	6
I.7.1. La première phase (pantelante).....	6
I.7.2. La deuxième phase (rigidité cadavérique).....	6
I.7.3. La troisième phase (phase de maturation).....	7
I.7.4. La quatrième phase (phase de putréfaction).....	7
I.8. Le développement de la production des viandes blanches en algérie.....	7
I.9. La consommation des la viandes.....	8
I.10. La conservation des la viandes.....	9
Chapitre II : Les antibiotiques en médecine vétérinaire	
II.1. Historique.....	10
II.2. Définition d'un antibiotique.....	11
II.3. Mode d'action antibiotique : Bactériostase / Bactéricide.....	11
II.3.1. Effet bactériostatique ou bactéricide.....	12
II.4. Usage des antibiotiques en médecine vétérinaire.....	12
II.5. Classification des antibiotiques.	14
II.5.1. Critères de Classification.....	14
II.5.2. Classification des antibiotiques selon leur la cible bactérienne.....	15
II.6. Principales familles d'antibiotiques et leurs spectres d'activité.....	17

II.7.Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	19
II.7.1. Résistance naturelle.....	19
II.7.2.Résistance acquise.....	19
II.8.Association des antibiotiques.....	21
II.9.Pharmacocinétique des antibiotiques.....	22
II.9.1.Définition.....	22
Chapitre III: Les résidus d'antibiotiques dans la viande blanche	
III.1. Les résidus d'antibiotiques	26
III.1.1. Définition des résidus	26
III.1.2. Origine des résidus	26
III.1.3. Facteurs de persistance des résidus	26
III.1.4. Conséquences négatives de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux..	27
III.2. Les antibiotiques dont l'usage est interdit pour le traitement des animaux dont les productions sont destinés à la consommation humain.....	27
III.3. Le délai d'attente et la limite maximale des résidus.....	28
III.3.1 Le délai d'attente.....	28
III.3.1.1 Définition.....	28
III.3.1.2. Fixation du temps d'attente.....	28
III.3.1.3. Méthodes de calcul du temps d'attente.....	29
III.3.1.3.1. La méthode statistique.....	29
III.3.1.3.2. La méthode pragmatique.....	30
III.4.1. La limite maximale de résidus (LMR).....	31
III.4.2. La LMR Toxicologique.....	31
III.4.3. La LMR Bacteriologique.....	31
III.4.1.1. Fixation de la LMR.....	32
III.5.Les risques posent par la présence des résidus d'antibiotique dans les viandes blanches.....	32
III.5.1. Risques pour la sante publique.....	33
III.5.1.1.Toxicité directe.....	33
III.5.1.2. Risques allergiques liés à la présence de résidus.....	34
III.5.1.3. Risques embryotoxiques et tératogènes.....	34
III.5.1.4. risque cancérigène.....	35
III.5.1.5.Risques liés à la modification de la flore digestive par les résidus d'antibiotiques.....	35

III.5.1.6.Risques de développement et de dissémination de résistances bactériennes aux antibiotiques.....	37
III.5.1.7. Risques de résistances aux antibiotiques.....	38
III.5.1.7.1. définition de la résistance.....	38
III.5.1.7.2 . Mécanismes de résistance.....	39
III.5.1.8.Les autres effets pour l'homme dus a la présence de résidus d'antibiotiques.....	41
III.5.2. Risques pour la sante animale.....	42
III.5.3. Risques d'ordre technologique.....	42
III.5.4. Risques pour l'environnement.....	42
III. 6. Evaluation des résidus d'antibiotique	43
III. 6 .1. L'appréciation des risqué.....	44
III. 6.1.1. L'identification des dangers.....	44
III. 6.1.2. La caractérisation des dangers.....	44
III. 6.1.3. L'évaluation de l'exposition.....	45
III. 6.1.4. La caractérisation des risques.....	45
III. 6.2. La gestion des risques.....	45
III. 6.3. La Communication Sur Les Risques.....	45
Chapitre IV:Les méthodes de détection et de quantification des résidus des antibiotiques dans viande blanche	
IV .1. Historique et évolution des méthodes de détection dans le temps	46
IV .2. Méthodes de détection (dépistage).....	46
IV .2.1. Phase 1: le pré- screening (test de premier dépistage).....	47
IV .2.1.1. Test rénal.....	47
IV .2.1.2. Premi test.....	48
IV .2.1.3. Test européen (méthode des 4 boites).....	50
IV .2.2. Phase 2: le screening (dépistage sélectif).....	50
IV .2.2.1. Méthodes biochimiques	51
IV .2.2.2. Méthodes immunologiques.....	52
IV .3. Méthodes de confirmation et de quantification.....	53
IV .3.3. Phase 3: La confirmation et l'identification.....	53
IV .3.3.1. Les méthodes chromatographiques.....	54
IV .3.3.2. Définition.....	54
IV .3.3.3. Chromatographie liquide haute performance (HPLC).....	54

IV .3.3.4. Description.....	55
IV .3.3.5. Les domaines d'application.....	56
IV .3.3.6. L'appareillage.....	57
IV .3.3.6.1 Un réservoir de solvant (éluent).....	58
IV .3.3.6.2 La pompe.....	58
IV .3.3.6.3 Vanne d'injection.....	58
IV .3.3.6.4 La colonne.....	59
IV .3.3.6.5.1 La phase stationnaire(fixe).....	59
IV .3.3.6.5.2. La phase mobile.....	60
IV .3.3.6.6 Détecteurs.....	60
IV .3.3.6.7 Enregistreurs	62
IV.3.3.2 Méthode spectrométrique (spectrométrie de masse (SM)).....	62
IV.3.3.2.1 Définition	62
IV.3.3.2.2. Principe de la SM	62
IV.3.3.3. La Spectrométrie DEUV.....	63
IV.3.4. Phase 4: La quantification de la teneur en résidus.....	63
Conclusion générale	65
Résumé.....	66
Références bibliographique	68
Annexes.....	78
résume et mots clés	

Introduction générale

Les antibiotiques ont une place importante dans l'élevage moderne d'aujourd'hui et plus spécialement en élevage du poulet de chair.

Leur utilisation suscite toujours de nombreuses interrogations bien que des décisions aient conduites à la réduction de leur utilisation, notamment avec l'interdiction récente de presque tous les additifs antibiotiques alimentaires facteurs de croissance. Leur nécessité dans l'arsenal thérapeutique et leur utilité économique est cependant indéniable. Il convient donc de s'interroger sur les risques qu'encourent les consommateurs liés à leur utilisation chez les animaux producteurs de denrées alimentaires, c'est-à-dire sur les risques liés à la présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale pour les consommateurs mais aussi pour l'Industrie agro-alimentaire.

L'acuité et l'importance de ce problème de santé publique nous ont amené à s'intéresser à ce thème.

Dans ce travail nous évoquerons tout d'abord des données bibliographiques essentiels sur la viande blanche, les principaux antibiotiques utilisés en élevage et les conséquences de la présence de leurs résidus dans la viande blanche et enfin nous avons essayé de donner les différentes méthodes utilisées pour la détection de ces résidus.

CHAPITRE I

LA VIANDE BLANCHE

I.1. Définitions

I.1.1. Définition de la viande

La viande et ses dérivés occupent une place de choix dans notre alimentation tant pour des raisons nutritionnelles que pour des raisons socioculturelles (Clinquart A .et *al.* ,1999).

La viande, selon l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE), désigne toutes les parties comestibles d'un animal. Le mot « animal », dans ce contexte, désigne « tout mammifère ou oiseau, ainsi que les abeilles » (OIE., 2010). La viande pourrait donc être définie comme l'ensemble des aliments d'animaux constitués par les tissus musculaires, associés à du gras, des nerfs et du sang, ainsi que de la triperie et des abats. La viande est aussi une bonne source de sélénium (Kantati Y T., 2011).

I.1.2. Définition de la viande blanche

La viande blanche est une protéine animale présentant autant de qualités nutritives que la viande rouge (ovine, bovine, Etc.). Dans le passé cette protéine était qualifiée de viande de pauvres. Actuellement et compte tenu des avantages qu'elle présente en matière de lipides (moins de matières grasses), cette viande est conseillée aux patients au titre d'un régime alimentaire non gras pour la maîtrise du taux de cholestérol. Elle est recommandée également aux sportifs et aux personnes intéressées par une taille fine et une bonne forme (fitness), (Boukhalfa L .,2006). La viandes blanches, pauvres en myoglobine, mais riches en fibres de type II (fibres de type II surtout) encore appelées fibres à contraction rapides ou glycolytiques (volaille, lapins) (Coibion L .,2008).

I.2. Importance de la viande

L'aviculture prend une place de choix dans les plans de développement de nombreuses nations tant pour des raisons nutritionnelles et économiques que de goût. Parmi les nutriments indispensables à la vie figure les matières azotées et plus particulièrement celles d'origine animale. L'azote peut être apporté par les viandes dont celles de volailles (Ndiaye M L ., 2002).

I.3. Composition chimique de la viande

La composition globale de la viande est variable. Elle varie selon l'espèce et chez une même espèce d'un animal à un autre (selon l'état d'engraissement) et au sein d'un même animal d'un muscle à un autre. (Lawrie R A .,1975 , Pearson A M .et Young R B .,1989).

La composition chimique moyenne du muscle des mammifères il illustré dans le tableau 1.

Tableau n° 1: Composition chimique principale du muscle.

Composés		Pourcentages(%)
Eau		75
Protéine	Myofibrillaires	11.5
	Sarcoplasmiques	5.5
Lipides		2.5
Sels minéraux (cendres)		2.3

(Lawrie R A ., 1975 , Pearson A M .et Young R B .,1989).

Le tableau 2 montre la diversification de la composition chimique qui existe entre le taurillon, veau, le poulet et le lapin.

Tableau n° 2: Composition chimique (g) et valeur énergétique (kl) pour 100g de fraction comestibles des viandes de taurillon, du veau, du poulet et de la viande de lapin.

	Taurillon	Veau	Poulet	Lapin
Eau	69.1	73.5	72.2	72.5
Protéine	19.5	20.5	20.1	21.0
Lipides	9.0	4.0	6.6	5.0
Energie	665	493.5	586	725
Minéraux	1.0	1.1	1.1	1.2

(Combes S ., 2004, Salvini S .et al ., 1998).

I.4.Principales espèces productrices de viande blanche

Les différentes espèces productrices de la viande blanche sont présentes dans le tableau 3.

Tableau n° 3: Principales espèces à l'origine de viande blanche.

Poussin		0.4 à 0.7 Kg
Poulet	Mâle et femelle	0.8 à 1.3 Kg
Poularde	Femelle bien engraisés. On caractérise la poularde par ses pates bleues	1.3 à 1.8 Kg
Chapon	Coq castré	2 à 3 Kg
Poule	Femelle en fin de croissance, abattue après la première période de ponte	
Dindonneau		2 à 3 Kg
Dinde		3 à 6 Kg
Dindon		6 à 12 Kg

(Zeghilet N., 2009).

I.5.Valeur nutritive de la viande

La valeur nutritive de la viande peut être résumée dans ces quatre points essentiels suivants :

- Tout d'abord la viande est une source d'azote de grande valeur biologique. Cet azote est présent sous forme de protéines (Belhadj M T., 2008).

Ces protéines sont composées essentiellement de myosine, myoalbumine et de collagène.

Il s'agit, pour la myosine et la myoalbumine, de protéines d'excellente qualité comportant tous les acides aminés indispensables, ce qui confère aux viandes un très bon coefficient d'efficacité protidique (Zeghilet N., 2009).

- Elle est également une source d'énergie. Son potentiel calorique dépend énormément de sa teneur en matières grasses. La teneur en glucides est négligeable car il n'y a pratiquement plus de glycogène dans la viande au stade de sa commercialisation .
- Elle est aussi une bonne source de minéraux. Les viandes sont riches en phosphore et représentent la meilleure source alimentaire de fer héminique, (Belhadj M T., 2008).

Il s'agit de fer ferreux, mieux absorbé que le fer ferrique des végétaux. Cette catégorie d'aliments est pauvre en calcium et présente un très mauvais rapport Ca/P. Les abats, en particulier le foie, sont très riches en fer et en phosphore.

- 38,8 % de fer. - 14,6 % de la vitamine A.
- 1,8% de la vitamine C.
- 30% de la vitamine B2.
- 52,8% De la vitamine B1.
- 65,3 % de la vitamine PP (niacine) (Drieux H .et *al.*, 1962).

I.5.1. La valeur énergétique

La viande est une source d'énergie, elle est surtout en proportion de sa surcharge en graisse (Laurent C., 1974). Dans l'organisme, les protides peuvent être transformés partiellement en glucides ou lipides et donc devenir une source d'énergie (Truchot E., 1979).

I.5.2. La valeur protidique

Les protéines d'origine animale ont une meilleure digestibilité que les protéines d'origine végétale. La viande permet un apport de protéine de qualité, riches en acides-aminés indispensables.

Les protéines se répartissent en 03 catégories en fonction de leur solubilité : protéines sarcoplasmiques (protéines extractibles à faible force ionique), protéines myofibrillaires (protéines extractibles à force ionique élevée), et protéines du cytosquelette et collagène ou protéines du stroma (Lawrie R A., 1998 , Benaissa A., 2011).

I.5.3. La matière grasse

Les viandes des volailles ont la réputation d'être pauvre en lipide. C'est en particulier, le cas du poulet et de la dinde (Alleman F .et *al.*, 1999).

I.6. La structure du muscle

Les fibres sont des cellules longues (plusieurs centimètres de long), fines et plurinuclées, composées de plusieurs fibrilles capables de se contracter : les Myofibrilles, entourées par une membrane appelée sarcolemme. Ces myofibrilles constituées d'une association de stries claires et foncées définissant le sarcomère (figure 1).

L'alignement régulier des sarcomères est assuré par un réseau tridimensionnel cytosquelettique. Ce dernier assure le maintien transversal et longitudinal par des filaments intermédiaires reliant les sarcomères entre eux et par des costamères, structures reliant les myofibrilles et le sarcolemme (figure 1) (Achouri A H., 2008 , Blais C., 2011).

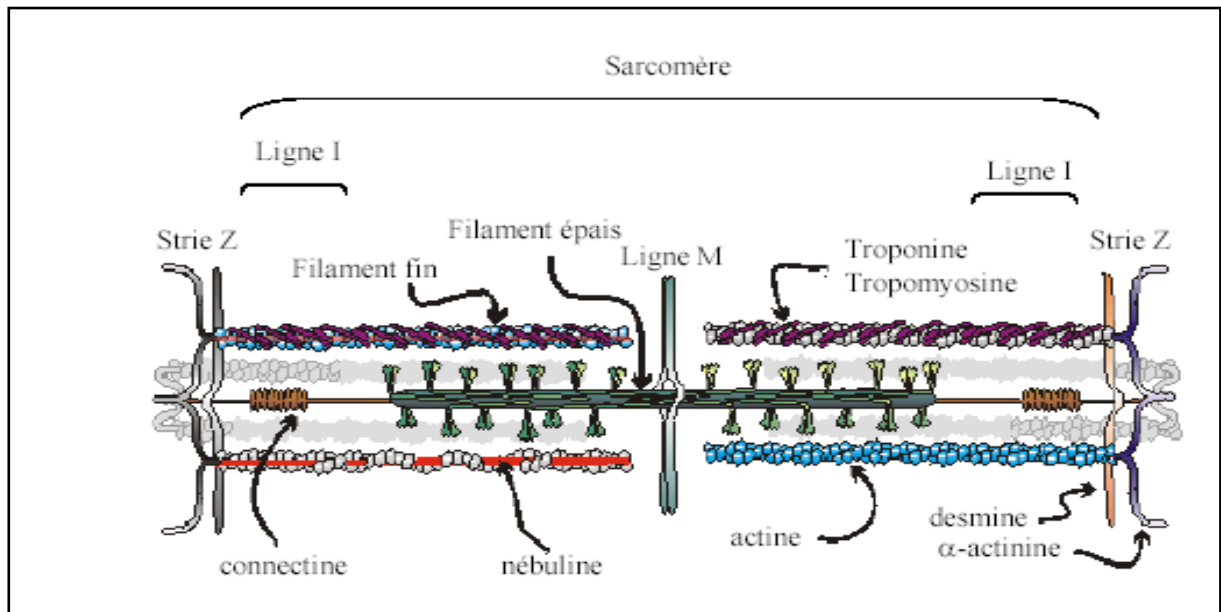


Figure n° 1 : Constituants du sarcomère (Chéret R., 2005).

I.7. La transformation des muscles en viande

Après l'abattage, le muscle subit deux phénomènes très importants pour devenir viande: La rigidité cadavérique et la maturation. Ces transformations sont surtout d'ordre chimique avec intervention des systèmes enzymatiques (Craplet C., 1966).

Au cours de la maturation à l'état réfrigéré, lorsque le muscle est transformé en viande, le muscle est soumis à une transformation partagée en trois phases (Coibion L., 2008, El Rammouz R., 2005).

I.7.1. La première phase (pantelante)

Concerne les trois premières heures après l'abattage. Il se caractérise par un muscle « vivant » et flasque. La tendreté du muscle à cet instant est équivalente à celle du muscle après une maturation d'une quinzaine de jours. C'est une phase caractérisée par une perte rapide d'extensibilité en liaison avec la disparition de l'ATP contenu dans les muscles (Fabre pradal M., 1989).

I.7.2. La deuxième phase (rigidité cadavérique)

S'installe progressivement (pendant 24 heures dans le cas de la viande de boeuf). Elle se caractérise par des muscles plus durs et inextensibles. Les muscles deviennent alors inextensibles et les axes osseux sont difficiles à déplacer les uns par rapport aux autres (Chéret R., 2005).

I.7.3. La troisième phase (phase de maturation)

Conduit à un attendrissement du muscle. Lors de cette phase dont la durée peut atteindre plusieurs jours (10 jours environ pour la viande de boeuf) (Ouali A ., 1990), la dureté est réduite de 80%. Après la phase de rigor mortis, la viande commence à s'attendrir sous l'effet de la maturation (Chéret R ., 2005).

I.7.4. La quatrième phase (phase de putréfaction)

Dans les conditions d'asepsie la poursuite des phénomènes précédents aboutit à l'autolyse (Craplet C ., 1966).

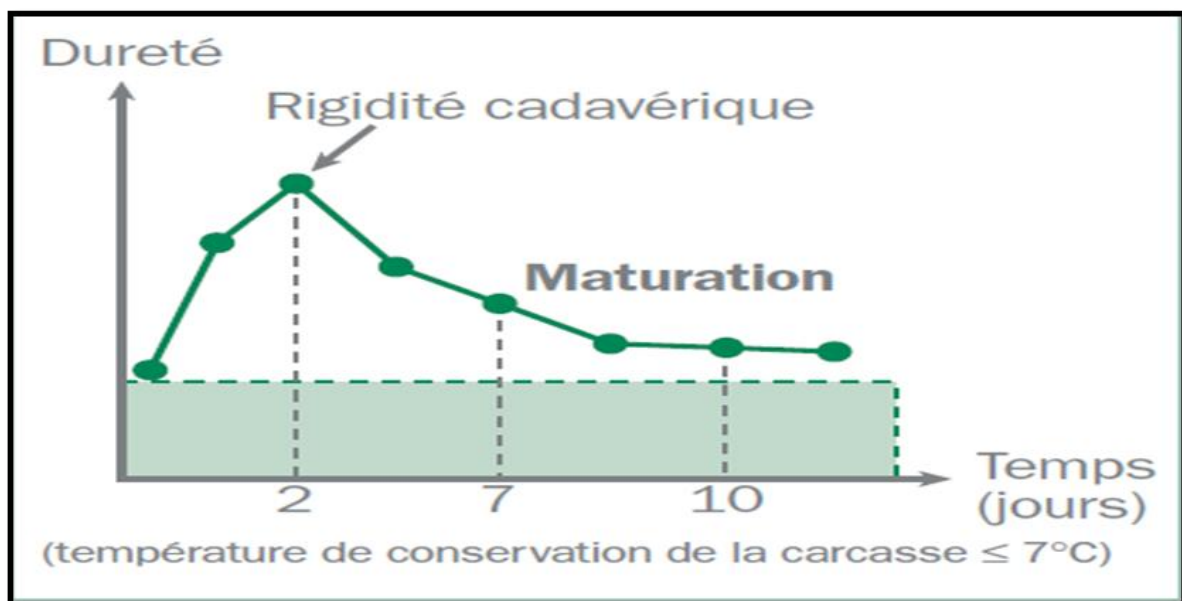


Figure n° 2: Evolution de la dureté du muscle après l'abattage (CIV., 2004).

I.8. Le développement de la production des viandes blanches en Algérie

En 2008, la production moyenne des viandes blanches est estimée à 190.000 tonnes, soit, environ 08 kg par habitant et par an.

La filière avicole repose sur l'importation de facteurs de production, notamment les reproducteurs. La principale contrainte rencontrée est la dépendance en aliments (maïs et tourteau de soja totalement importés), dont les fortes hausses du cours de ces matières premières se sont répercutées sur le prix des viandes blanches à la consommation.

L'appui de l'Etat est focalisé sur la mise en place et le renforcement du système de régulation ainsi que sur l'encouragement des productions oléagineuses (MADR ., 2010).

Tableau n° 4: Evolution de production de la viande blanche en Algérie (1977-2008),

Années et périodes	Viandes blanches (tonne)
Moyenne 1977	70000
Moyenne 1982	116000
Moyenne 1984- 1989	200000
Moyenne 1990-1995	220000
Moyenne 1996-1999	185585
Moyenne 2000-2004	174454
Moyenne 2005-2007	330000
Moyenne 2008	190000

(Feliachi K., 2003, Ferrah A., 2005).

1.9. La consommation de la viande

La consommation de viande évolue différemment à travers le monde. Aussi, pour différentes raisons historiques, culturelles, pédoclimatiques, culturelles ou autres, les préférences des consommateurs en matière de viande diffèrent-elles d'un continent à l'autre. Depuis quelques années, la consommation de viande montre un revirement dans la majorité des pays développés.

De manière générale, la viande rouge perd de la popularité au profit de la viande blanche. La plupart des analyses socio-économiques attribuent cette évolution à un changement profond des préférences alimentaires des consommateurs.

En effet, la forte tendance santé en alimentation, qui consiste à limiter sa consommation de viande rouge et de gras animal, influence le régime alimentaire des consommateurs dans le monde. En conséquence, les sociétés développées remplacent de plus en plus la viande rouge dans leur régime alimentaire par d'autres sources de protéines, notamment la volaille.

D'un autre côté, dans les pays en développement, notamment ceux en émergence, la consommation des viandes rouge et blanche connaît une croissance soutenue. Cette croissance peut être fortement corrélée avec l'amélioration du niveau de vie de la population, puisque l'évolution de la consommation de viande demeure liée à l'augmentation du revenu par habitant et à l'urbanisation de la population.

De toute évidence, plus d'un facteur influence la consommation de viande chez une personne. Compte tenu des changements socio-économiques, des nouvelles tendances alimentaires et de l'évolution de la demande mondiale pour les produits carnés (Josée R., 2012)

1.10. Conservation des la viandes

La conservation des viandes dépend presque exclusivement de l'évolution des bactéries responsables des altérations qui rendent le produit impropre à la consommation (Fournaud N.,1988). La conservation permet de garder au maximum les différentes qualités de la viande.

La conservation des viandes peut être faire par différents procédés :

- ✚ par le froid : réfrigération, congélation et surgélation.
- ✚ par la chaleur : cuisson, pasteurisation, tyndallisation et appertisation.
- ✚ par déshydratation avec ou sans fumage : étuvage- fumage à 25-30°C, séchage à 10-12°C, boucanage (procédé le plus ancien), lyophilisation.
- ✚ par le sel de cuisine ou autre agent de salaison : chlorure de sodium, auquel on incorpore ou non du nitrate de sodium ; saccharose ou autre glucides ; acides ascorbiques ou autre additifs autorisés .
- ✚ par fermentation (lactique, notamment), quelque fois l'anhydride sulfureux ou certains antibiotiques.
- ✚ par irradiation UV
- ✚ au moyen d'emballages spéciaux dans les quelles on peut faire le vide ou conditionner sous gaz carbonique ou azote (Henry D .et Coll .,1992 , Houari Boumediene A.,2009).

CHAPITRE II

LES ANTIBIOTIQUES EN MEDECINE VETERINAIRE

II.1.Historique

En 1928, le docteur Alexander Fleming, de retour de vacances, constate que les boîtes de Pétri, où il faisait pousser des staphylocoques, ont été envahies par des colonies cotonneuses d'un blanc verdâtre ; *Penicillium notatum*. Alors qu'il doit désinfecter ces boîtes contaminées, Fleming s'aperçoit qu'autour des colonies de moisissure, il existe une zone circulaire dans laquelle le staphylocoque n'a pas poussé. Il émet l'hypothèse qu'une substance sécrétée par le champignon en est responsable et lui donne le nom de pénicilline (Boultif L., 2009). fallait attendre une dizaine d'années avant que la pénicilline ne revienne sur le devant de la scène. C'est en 1939, que Howard Walter Florey et Ernest Boris Chain, réussirent à isoler l'agent actif de la pénicilline, ils ont fait des essais thérapeutiques sur l'animal (Chain), puis sur l'homme (Florey). 1942-1945 : développement des procédés industriels de préparation des pénicillines 1949 : Behrens mettait en évidence la notion de précurseur et de préparation de pénicillines biosynthétiques .1950 : préparation des pénicillines « retard ». 1959 : Batchelor, isolait l'acide amino-6 pénicillinique et préparait des pénicillines semi-synthétiques.

En octobre 1964, Dorothy Crowfoot Hodgkin recevait un prix Nobel en chimie pour avoir découvert la structure moléculaire de la pénicilline

En 1945, Brotzu G., isolait une souche de *Céphalosporium acremonium* à partir d'un réseau d'égouts, cette moisissure produit une substance qui inhibe la croissance de nombreuses espèces bactériennes.

En 1943, Schatz et Waksman isolaient une souche de *Streptomyces griseus* et mettaient en évidence son activité antimicrobienne en 1944.

En 1952, Mac Guire isolait l'érythromycine à partir de *Streptomyce erythraeus*, (Boultif L., 2009).

Tableau n°5: Date de découverte de quelques molécules d'antibiotiques naturelles

Micro-organisme	Famille	Molécule	Date de découverte
Pénicillium	Pénicillines	Pénicilline	1929
Streptomyces	Aminoglycosides	Streptomycine	1944
		Néomycine	1949
		Kanamycine	1957
		Tobramycine	1967
		Amikacine	1975
	Tétracyclines	Chlorotétracycline	1948
		Oxytétracycline	1949
	Quinolones	Acidenalidixique	1962
Céphalosporum	Macrolides	Chloramphénicol	1946
	Phénicolés	Erythromycine	1952
	Céphalosporines	Céphalotine	1954

(Zeghilet N., 2009).

II.2. Définition d'un antibiotique

l'antibiotique est toute substance produite par des micro-organismes et capable, à faible concentration, d'empêcher la croissance d'autres microorganismes ou de les détruire (Haffas M., 2009).

D'après les bactériologistes, les antibiotiques sont des composés naturels ou chimiques qui agissent à faibles doses sur les micro-organismes et qui n'ont pas de toxicité sur l'hôte (Haffas M., 2009).

Un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique (produite par un micro-organisme: champignon microscopique ou bactérie), synthétique ou semi synthétique, qui agit sélectivement à faible concentration et en quelques heures sur une étape du métabolisme bactérien (Ayachi H., 2011).

II.3. Mode d'action antibiotique : Bactériostase / Bactéricidie

Tous les antibiotiques ont le pouvoir de détruire (effet bactéricide) ou, d'inhiber la multiplication (effet bactériostatique) de certaines bactéries. Selon leur concentration, ils peuvent agir selon deux modalités différentes correspondant à des degrés dans l'intensité de leur action : la bactéricide et la bactériostase (Messai A., 2006).

Tableau n° 6: Classification des antibiotiques suivant leur mode d'action.

Action bactériostatique		-Tétracyclines -Macrolides - Sulfamides
Action bactéricide	Actifs uniquement sur les germes en voie de multiplication (septicémie, infections aiguës)	-Bêta-Lactamines
	Actifs sur les germes au repos (infections chroniques), et en voie de multiplication.	- Aminosides - Colistine - Quinolones

(Messai A.,2006).

II.3.1. Effet bactériostatique ou bactéricide

La fixation de bêta-lactames sur les PBP (Pénicilline Binding Protéines) induit un effet bactériostatique. Les bactéries néoformées, en présence de bêta-lactames, sont très fragiles car elles présenteront une paroi déficiente et beaucoup moins rigide. L'effet bactéricide est dû à un phénomène autolytique des bactéries. Tout se passe comme si on détruisait l'équilibre entre les différentes enzymes. Les β -lactames, qui inhibent les polymérase, vont favoriser l'activité des hydrolases qui dégradent les peptidoglycanes. C'est un effet indirect décalé dans le temps (Messai A.,2006).

II.4. Usage des antibiotiques en médecine vétérinaire

En médecine vétérinaire, il existe quatre usages possibles des antibiotiques, chacun ayant un objectif précis (Sylvie K.,2009).

✓ **L'usage curatif**

L'usage curatif ou thérapeutique, consiste à traiter individuellement les animaux qui présentent des signes cliniques d'infection, c'est-à-dire à traiter une infection bactérienne existante. L'objectif majeur est d'obtenir la guérison de ces animaux cliniquement malades et d'éviter la mortalité. En général le traitement est individuel et il est mis en œuvre chez les animaux domestiques animaux domestiques, et les grands animaux de rentes (vaches laitières).

Le plus souvent, le traitement antibiotique est donné par voie orale ou par voie parentérale. Dans le cas d'une antibiothérapie de type curative, à l'initiation du traitement, il est généralement admis que la charge bactérienne est importante étant donné que les animaux ont déjà développé des symptômes cliniques(Sylvie K.,2009).

✓ **L'usage métaphylactique**

Les traitements individuels sont souvent impossibles pour les grands élevages d'animaux tels que les bandes de volailles ou de veaux. Lorsqu'une infection contagieuse se déclare chez quelques animaux dans un élevage à grand effectif, l'ensemble du groupe est traité, c'est ce qu'on appelle la métaphylaxie ou prévention en milieu infecté. Cet usage permet de traiter les animaux soumis à la pression infectieuse alors qu'ils sont encore en phase d'incubation ou lorsque les manifestations cliniques sont très discrètes. La métaphylaxie est généralement mise en œuvre à partir d'un seuil d'atteinte des animaux au sein du lot de 10-15% de l'effectif. Une antibiothérapie précoce sur la totalité des animaux du groupe (lot, parquet, ...) peut permettre de réduire le nombre d'animaux malades et/ou la mortalité et peut diminuer la quantité d'antibiotique qui aurait été nécessaire pour traiter un grand nombre d'animaux malades présentant des signes cliniques d'infection. (Sylvie K.,2009).

Généralement, les traitements métaphylactiques se font par administration dans l'eau de boisson ou dans l'aliment. Ce type d'administration comporte certains risques tels que : une non homogénéité de la préparation antibiotique-nourriture, une incompatibilité de la substance avec les composés de la nourriture ou une insolubilité dans l'eau de boisson. De plus, une prise insuffisante de l'antibiotique, résultant de la diminution de la prise alimentaire et hydrique due au syndrome fébrile, ou à la modification du goût de l'aliment ou de la boisson peut conduire à une mauvaise exposition des animaux car la dose individuelle n'est pas contrôlée. Lors d'une antibiothérapie de type métaphylactique, les animaux traités ne sont probablement porteurs que d'une faible charge bactérienne étant donné qu'ils ont peu ou pas encore développé de signes cliniques d'infection. Pour les traitements métaphylactiques, le germe impliqué est connu a priori ainsi que ce que sera le devenir de la pathologie si rien n'est fait (Sylvie K.,2009).

✓ **L'usage prophylactique**

Les antibiothérapies prophylactiques sont mises en place lors de situations critiques c'est-à-dire lors de présence d'un facteur de risque très souvent associées au développement d'infections. Il s'agit notamment de périodes associées à un stress comme lors de transports, de regroupement d'animaux provenant d'élevages divers ou du sevrage, mais aussi lors de traitements chirurgicaux. Elles peuvent être appliquées de façon individuelle ou sur un groupe d'animaux. Les animaux traités ne présentent alors aucun signe clinique d'infection mais la connaissance a priori des infections se développant dans ces situations permet de choisir une classe d'antibiotique adaptée à la prévention des infections dues aux bactéries

les plus fréquemment rencontrées. La principale différence entre la métaphylaxie et la prophylaxie est que lors d'une prophylaxie il n'y a pas encore de germe impliqué mais seulement un facteur de risque (Bibbal D.,2008).

✓ Facteurs de croissance

Les antibiotiques peuvent être utilisés dans l'aliment au titre d'additifs en vue d'améliorer la croissance et les performances des animaux, sans que les mécanismes à l'origine de l'amélioration de ces performances aient été clairement élucidés.

Cet usage fait l'objet de nombreuses critiques et il est totalement interdit au sein de l'union Européenne depuis 2006 (Bibbal D.,2008).

Tableau n°7 : Utilisation de quelques antibiotiques en tant qu'additifs dans l'alimentation animale aux Etats-Unis.

Antibiotiques	Utilisation USA	Analogue en médecine humaine
Avilamycine	Non	Aucun
Avoparcine	Non	Glycopeptides
Bacitracine	Oui	Bacitracine
Bambermycine	Oui	Aucun
Carbadox	Oui	Aucun
Monensin	Oui	Aucun
Olaquinox	Non	Aucun
Pénicilline	Oui	B-lactamines
Salinomycine	Non	Aucun
Tétracycline	Oui	Tétracycline
Tiamuline	Oui	Aucun

(AFSSA., 2006).

II.5. Classification des antibiotiques

II.5.1 Critères de Classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- **Origine** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique)
- **Mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.

- **Spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)
- **Nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame), sur laquelle il y a semi synthèse.

La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (β -lactamines, aminosides, tétracyclines.....etc.) (Ayachi H.,2011).

II.5.2 Classification des antibiotiques selon leur mode d'action

On distingue selon le mode d'action :

- des antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne
- des antibiotiques actifs sur la synthèse protéique
- des antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques
- des antibiotiques actifs sur autre mécanisme (Rychembusch ., 2003).

✓ Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne

Les antibiotiques qui agissent sur la paroi sont essentiellement des inhibiteurs de la synthèse de peptidoglycane (Boultif L., 2009).

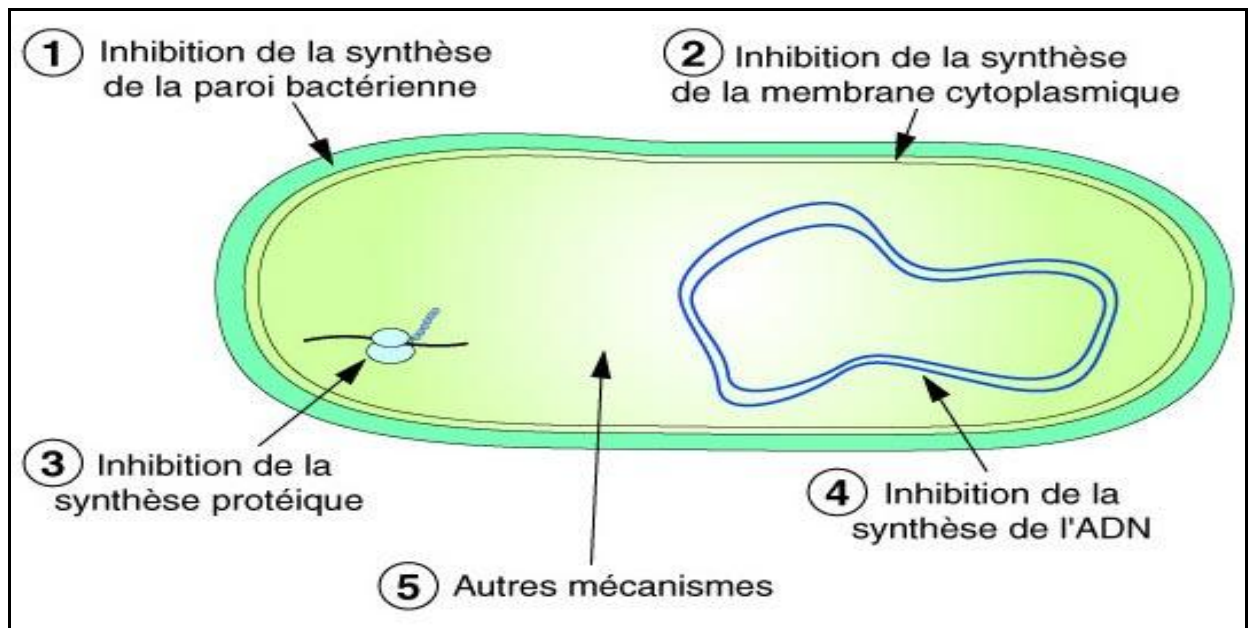


Figure n° 3 : Mécanisme d'action des antibiotique (Ayachi H.,2001).

On peut distinguer des antibiotiques qui agissent sur :

- les premières étapes de la synthèse du peptidoglycane ; c'est le cas de la fosfomycine, la vancomycine et la teicoplanine
- les dernières étapes de la synthèse du peptidoglycane ; c'est le cas des β lactamines (pénicillines et céphalosporines).

Les β -lactamines exercent leur effet antibiotique sur les germes possédant une paroi riche en peptidoglycane et sont sans effet sur les organismes dépourvus de paroi (mycoplasmes). Les β -lactamines, de par leur structure chimique inhibent, les transpeptidases extracytoplasmiques à condition d'entrer en contact avec elles. Dans les bactéries Gram positif, les différentes β -lactamines atteignent les transpeptidases à travers la paroi de peptidoglycane déjà constituée ou en cours de constitution. Par contre, dans les bactéries Gram négatif, elles n'atteignent ces enzymes qu'après pénétration à travers les canaux porines de la membrane externe (Boultif L., 2009).

✓ **Antibiotiques actifs sur la synthèse protéique (ribosomes)**

Ces antibiotiques inhibent la synthèse des protéines bactériennes par action sur les ribosomes, (Zeghilet N., 2009). :

- inhibition au niveau des sous unités 30 S des ribosomes : Aminoglycosides (lecture de l'ARNm est perturbée).
- inhibition au niveau des sous unités 50 S des ribosomes : soit par inhibition du site A (aminoacyl) avec translocation perturbée pour les macrolides, soit par inhibition de la fixation de l'aminoacyl-ARNt pour les tétracyclines, soit par inhibition du facteur d'élongation pour l'acide fusidique, soit enfin par inhibition de la fixation de l'aminoacyl-ARNt et l'inhibition de la peptidyltransférase pour les Phénicolés.

✓ **Les antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques**

On distingue des antibiotiques actifs d'une part sur la synthèse des ARN et d'autre part sur la synthèse des ADN (Boultif L., 2009).

- la réplication de l'ADN : inhibition de l'ADN-gyrase ou topoisomérase II (sous unité A), c'est le cas des quinolones.
- la transcription de l'ARN : inhibition de l'ARN polymérase-ADN dépendante (sous unité B), c'est le cas des rifamycines

✓ **les antibiotiques actifs par autres mécanismes**

Ces antibiotiques agissent en tant qu'antimétabolites bactériens en inhibant une des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries. C'est le cas des sulfamides, triméthoprim (qui inhibent la dihydroptéroate synthétase), et l'isoniazide (analogues structuraux du NAD) (Zeghilet N., 2009).

II.6.Principales familles d'antibiotiques et leurs spectres d'activité

Les principales familles d'antibiotiques ainsi que leurs spectres d'activité sont représenté dans le (tableau 8).

Tableau n° 8 : principales familles d'antibiotiques et leurs spectres d'activité.

Familles d'antibiotiques	Antibiotiques Correspondants	Spectres d'activité
Bêtalactamines	Bêtalactamines	Actives contre cocci Gram+ et Gram – ainsi que les bacille Gram+
	Les pénicillines	
	Pénicilline G	
	Ampicillines	
	Amoxycilline	
	Carbénicilline	
	Cloxacilline	
	Dicloxacilline	
	Oxacilline	
	Pipéracilline	
	Nafcicilline	
	Les céphalosporines	Actives contres les Gram +
	Première génération	
	Céfalexine	
	Cefalonium	
	Céfapirine	
	Céfalotine	
	Céfazoline	
	Céfadroxil	
	Céfradine	
	Deuxième génération	
Céfuroxime		
Céfoxitine		
Troisième génération		
Ceftiofur		
Céfopérazone		
Céfotiam		
Ceftazidime		

	<p>Céfépime</p> <p>Quatrième generation</p> <p>Cefquinome</p>	
Aminosides	<p>Streptomycine</p> <p>Néomycine</p> <p>Apramycine</p> <p>Amikacine</p> <p>Gentamicine</p> <p>Kanamycine</p> <p>Netilmicine</p> <p>Ribostamycine</p> <p>Spectinomycine</p> <p>Tobramycine</p> <p>Framycetine</p> <p>Paramomycine</p>	Actives contre les bacilles à Gram -
Phénicolés	<p>Chloramphénicol</p> <p>Thiamphénicol</p> <p>Florfénicol</p>	Spectre large
Tétracyclines	<p>Oxytétracycline</p> <p>Chlortétracycline</p> <p>Doxycycline</p> <p>Minocycline</p> <p>Déméthylchlortétracycline</p>	Spectre large
Macrolides	<p>Érythromycine</p> <p>Lincomycine</p> <p>Spiramycine</p> <p>Tylosine</p> <p>Josamycine</p> <p>Oléandomycine</p> <p>Tilmicosine</p> <p>Tulathromycine</p> <p>Actives contre les coques</p>	Gram+et Gram- et Bacille Gram+ Actifs sur les Mycoplasmes
Glycopeptides	<p>Vancomycine</p> <p>Teicoplanine</p>	Active contre les bactéries à Gram +

Polypeptides	Colistine Colistiméthate Polymyxine B Bacitracine Tyrothricine	Active contre les bacilles Gram -
Sulfamides	Sulfaméthizol Sulfathiazol Sulfadimidinesulfadimérazine Sulfaméthoxazole Sulfadiazine Sulfadiméthoxine	Spectre large
Quinolones Fluméquine Spectre large	Acide oxolinique Ciproflaxine Enrofloxacin EnrofloxacinDanofloxacin	Spectre large

(Boultif L., 2009).

II.7. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les mécanismes de résistance sont variés, mais on peut les classer en trois catégories principales.

II.7.1. Résistance naturelle

Pour chaque classe d'antibiotique, il existe des espèces bactériennes sur lesquelles l'antibiotique est inactif par défaut de cible ou d'accès à la cible. On parle d'espèces bactériennes naturellement résistantes et de mécanismes de résistance intrinsèques. Ceci peut être dû à l'absence de la cible (comme l'absence de paroi chez les mycoplasmes les rendant insensibles aux bêta-lactamines) ou encore à l'absence de pénétration de l'antibiotique (rôle de la membrane externe par exemple chez les bactéries Gram négatifs avec la vancomycine) (Chopra I O., 2003).

II.7.2. Résistance acquise

Les bactéries peuvent également acquérir la résistance à un antibiotique. Cette acquisition peut être liée à une (des) mutation(s) modifiant la cible de l'antibiotique, ou un schéma métabolique (Chopra I O., 2003).

Cette acquisition peut être la conséquence d'un transfert horizontal, y compris entre espèces éloignées phylogéniquement.

Les gènes de résistance aux antibiotiques chez les micro-organismes producteurs (et par lesquels ils résistent à leurs propres produits) sont généralement localisés sur le chromosome. Le transfert de ces gènes sera rendu plus efficace après leur intégration sur des éléments mobiles tels que plasmides, transposons, intégrons (Rowemagnus DAM ., 2001) ou encore sur des phages. Ces mécanismes de résistance peuvent alors diffuser très rapidement dans une population (Licht T R C., 1999). Les mécanismes de transfert (Figure 4) correspondent à des mécanismes bien connus : Transformation (à partir d'ADN nu , notamment dans l'écosystème du sol), conjugaison (à partir de plasmides), transduction (à partir de phages).

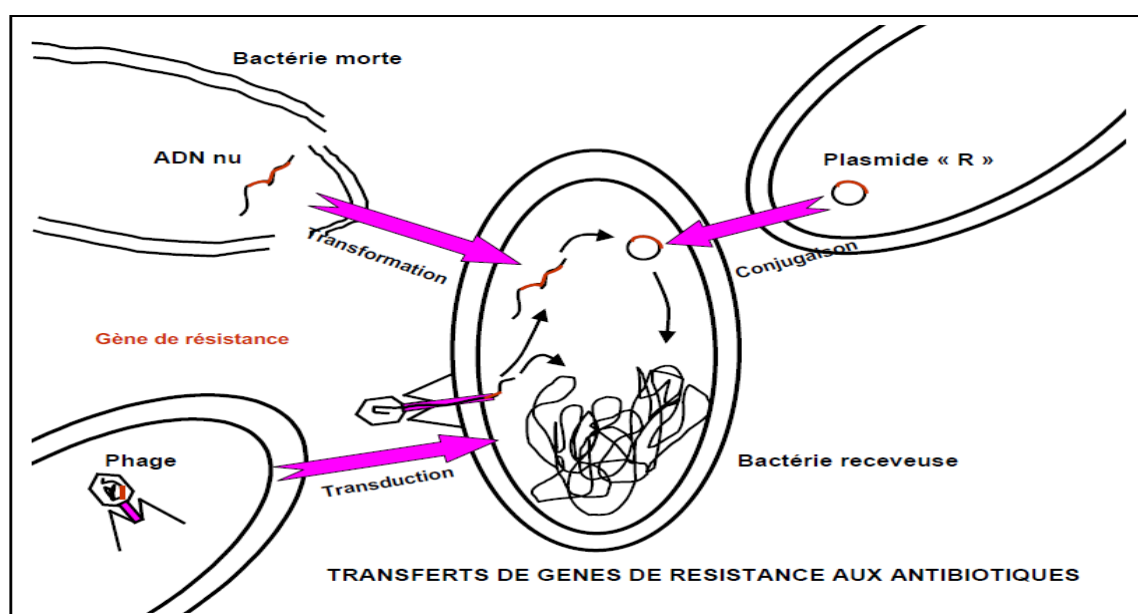


Figure n° 4 : Mécanismes de transferts des gènes de résistance (AFSSA.,2006).

Un gène peut coder pour un mécanisme de résistance aux antibiotiques. On parle de résistance croisée quand la résistance conférée par ce seul gène de résistance concerne plusieurs molécules appartenant à la même famille ou à des familles différentes. Par exemple, la résistance à la pénicilline des staphylocoques due à la production d'une nouvelle protéine liant les pénicillines est une résistance croisée envers toutes les molécules appartenant à la famille des bêta-lactamines. Un autre exemple est la résistance due à un système d'efflux qui va conférer une résistance croisée entre des molécules antibiotiques de différentes familles, tous substrats pour la pompe d'efflux.

Quand plusieurs gènes de résistance à différentes molécules ou familles d'antibiotiques s'associent au sein d'une structure génétique telle qu'un transposon, un plasmide

ou un intégron, on parle alors de co-résistance aux antibiotiques. Quand ces résistances sont transférables, elles sont généralement transférées en bloc.

L'utilisation d'un des antibiotiques pour lequel la bactérie est résistante sélectionnera en même temps, les autres gènes de résistance. Ce phénomène est appelé co-sélection. Les gènes associés dans ces structures peuvent concerner la résistance aux antibiotiques mais aussi d'autres mécanismes tels que la résistance aux métaux lourds ou l'adaptation à certains milieux particuliers. Des conditions, autres que les traitements antibiotiques peuvent être, dès lors, sélectionnantes dans certains environnements tels que les sols pollués ou les rivières (Petkewich R., 2002).

II.8. Association des antibiotiques

Théoriquement, l'utilisation en thérapeutique d'une association d'antibiotiques peut renfermer plusieurs avantages :

✓ **L'élargissement du spectre d'activité**

Réalisé en combinant deux antibiotiques avec des spectres complémentaires. Ceci est en particulier justifié : dans le traitement des infections polymicrobiennes ; le traitement des infections sévères, n'ayant pas pu être diagnostiquées avec précision et comme traitement de première intention en l'attente des résultats de l'antibiogramme (Messai A., 2006).

✓ **L'obtention d'un effet synergique**

L'effet synergique résulte d'une interaction positive entre deux antibiotiques dont l'action antibactérienne conjointe est supérieure à la somme de l'action de chacun des deux antibiotiques pris isolément. Cet effet est justifié pour le traitement des infections dues aux germes bactériens peu sensibles et dont les valeurs des CMI se situent à la limite des concentrations critiques ; le traitement des infections sévères affectant des animaux immunodéprimés et aussi dans le traitement des infections dont le siège se situe à un endroit difficilement atteignable par les antibiotiques (Messai A., 2006).

✓ **La diminution de l'émergence de souches bactériennes résistantes**

La probabilité de deux mutations simultanées est égale au produit des deux taux de mutation : elle est très faible, donc statistiquement, il est très improbable qu'une bactérie acquière simultanément par mutation la résistance à deux antibiotiques, a fortiori à plusieurs. La prescription d'associations d'antibiotiques peut-être légitime notamment pour les antibiotiques dont le risque de sélection de mutants est relativement élevé (Triméthoprime, Quinolones) (Messai A., 2006).

✓ **La complémentarité des modes de diffusion tissulaires**

Les difficultés de diffusion tissulaire d'un antibiotique peuvent être compensées par l'autre, ce qui permet d'atteindre l'agent infectieux dans les différents endroits de l'organisme. C'est le cas d'association d'un antibiotique faiblement absorbable par voie orale avec un autre diffusible par voie générale (Messai A.,2006).

✓ **La diminution de la toxicité ;** pour réduire leur toxicité rénale, l'association de deux sulfamides, de solubilité et de vitesse d'élimination différentes, s'avère moins dangereux que la dose double de l'un d'eux. Cette association prévient leur cristallisation dans les voies urinaires(Messai A.,2006).

II.9. Pharmacocinétique des antibiotiques

La connaissance de la pharmacocinétique est essentielle afin de comprendre les effets des médicaments(Boultif L.,2009).

II.9.1. Définition

C'est l'étude qualitative et quantitative du devenir d'un médicament après son administration à l'organisme c'est à dire que la pharmacocinétique rapporte ce que l'organisme fait au médicament ; elle étudie comment le corps absorbe, distribue, métabolise et excrète ce dernier la pharmacocinétique comporte donc quatre phases qui se déroulent simultanément :

- L'absorption
- La distribution
- La biotransformations
- L'excrétion

La cinétique est très spécifique à chacune des substances. Elle varie d'une espèce à l'autre et est fortement influencée par la forme galénique des spécialités, par conséquent, il est vivement conseillé de connaître la pharmacocinétique des principales familles d'antibiotiques (Boultif L.,2009).

✓ **L'absorption**

L'absorption d'une molécule, c'est-à-dire son passage du site d'administration à la circulation sanguine est fonction à la fois des propriétés de la molécule et des modalités d'administration notamment de la voie (orale ,parentérale) et de la formulation du médicament.

➤ Absorption orale

L'absorption orale se fait essentiellement au niveau de l'estomac et de l'intestin grêle. La muqueuse digestive peut être considérée comme une membrane lipoprotéique à pores. L'absorption répond donc aux règles du passage trans-membranaire. Dans le tube digestif, la fraction solubilisée d'un antibiotique est seul à être résorbé, cette résorption résulte en fait de l'addition de deux vitesses qui sont:

- vitesse de dissolution de la forme galénique administrée
- vitesse de processus de résorption de l'antibiotique à la muqueuse digestive

En outre, plusieurs facteurs peuvent interférer avec cette résorption comme : - pH et pKa (constante de dissociation ionique). Les antibiotiques de caractères acides sont résorbés principalement au niveau gastrique où la réaction acide inhibe leur dissociation ionique, tandis que les autres de caractère basique sont résorbés au niveau intestinal où le milieu est alcalin

- Structure physique

- Etat de vacuité gastrique; plus souvent la résorption digestive des antibiotiques est retardée par la présence des aliments (Hadeff L.,2009).

➤ Absorption parenterale

L'administration par voie parentérale est particulièrement utilisée en médecine Vétérinaire car elle représente souvent une voie plus commode que la voie orale le rythme Le rythme d'absorption peut être ralenti par certains artifices modifiant la molécule ou par association de certains composants par les tissus moins irrigués (peau, tissus graisseux) et qui fait fonction de réservoir (Hadeff L.,2009).

✓ La distribution

Après absorption, les substances chimiques vont être distribuées dans tout l'organisme, essentiellement par voie sanguine, elles se fixeront sur divers organes et tissus en fonction de différents paramètres tenant à la substance considérée et à l'organe en cause (Hadeff L.,2009).

L'antibiotique parvient au site de l'infection plus ou moins bien : certains organes sont mieux irrigués que d'autres ; le site même de l'infection peut être mal irrigué (amas fibrino-leucocytaire de végétations valvulaires cardiaques, abcès entouré d'une coque). Les germes peuvent être situés dans le sang ou dans les espaces extracellulaires, ou à l'intérieur de cellules qui les ont phagocytés. Lorsque le passage de l'antibiotique du sang vers un site d'infection se fait par diffusion passive, Il se fera d'autant mieux que le gradient des concentrations (de la forme libre, seule diffusible) entre le plasma et les tissus sera important.

Dans ce but, on peut même chercher un mode d'administration qui procure des concentrations les plus élevés possibles (des pics), avec pour limite la toxicité propre éventuelle de l'antibiotique. La pénétration dans le système nerveux, l'oeil et la prostate sont dépendants d'un transport actif. Si les bactéries se développent à l'intérieur de cellules, il faudra que les antibiotiques puissent y parvenir, sous une forme active ; un pH intra cellulaire plus ou moins acide ou basique modifie la vitesse de traversée des membranes des molécules, plus ou moins ionisées.

Les quinolones, la rifampicine, l'isoniazide, l'association sulfaméthoxazole triméthoprimine pénètrent particulièrement bien.

L'administration d'une molécule à une dose et à un rythme donné peut donc être efficace sur une infection causée par un germe donné si elle est située dans un organe, et pas efficace si elle est située dans un autre.

Le tube digestif, les méninges, la prostate, l'os ou les cavités urinaires par exemple posent des problèmes d'accès très différents (Zeghilet N., 2009).

✓ **Biotransformations**

Comme tous les médicaments, les antibiotiques peuvent subir des transformations, en métabolites, actifs ou non sur les bactéries, toxiques ou non; (c'est à dire induisant des effets indésirables). Les substances actives peuvent être métabolisées par différents organes. Si toutes les cellules de l'organisme possèdent une capacité métabolique de base, certains organes ont une capacité métabolique importante (foie, rein, poumon). La transformation d'une molécule par le métabolisme dépend de la structure de la molécule et des voies métaboliques exprimées chez l'animal.

Certaines molécules sont rapidement dégradées en métabolites inactifs au plan de l'activité antimicrobienne tandis que d'autres sont peu métabolisées ou que le métabolisme conduit à des métabolites actifs au plan microbiologique (Guillemot D., 2006).

Au sein des tissus, a lieu des biotransformations ou métabolisme qui sont un ensemble de réactions chimiques, en général catalysées par des enzymes, ayant pour effet de modifier la structure des principes actifs. On observe par exemple des oxydations, des hydroxylations, des réductions ou des hydrolyses (Jaussaud P., 2002).

Les biotransformations peuvent conduire à une inactivation et une détoxification des principes actifs vis à vis de l'organisme ou au contraire à un processus d'activation. Les réactions métaboliques que subissent les principes actifs peuvent conduire à une détoxification de deux façons :

- par inactivation, c'est-à-dire par blocage chimique des groupements responsables de l'activité pharmacologique ou toxique,
 - par augmentation de l'hydrosolubilité favorisant l'élimination urinaire. Mais elles peuvent aussi parfois conduire à une augmentation voire à une apparition d'activité pharmacologique.
- Les biotransformations représentent un phénomène majeur dans le processus de formation des résidus : elles conditionnent en effet en grande partie la persistance des substances médicamenteuses dans l'organisme des animaux traités (et dans les denrées issues de ces animaux), la nature des résidus et leurs propriétés pharmacologiques et toxicologiques.

Ainsi, seule une fraction des résidus présents dans les tissus des animaux, est identique à la molécule originelle, l'autre fraction correspondant à divers métabolites de cette molécule.

✓ **Excrétion**

Les concentrations dans un certain nombre de sécrétions ou excréta de l'organisme (bile, urine, lait, salive, mucus pulmonaire, sécrétion intestinale, sueur, etc).

Varié au cours du temps en fonction des modalités d'excrétion passive ou active de la molécule et de ses métabolites. L'étude de la cinétique plasmatique d'une molécule après administration intraveineuse et la mesure des quantités émises sous forme de substance parentale et de métabolites, estimée sur la base des concentrations moyennes mesurées sur des quantités d'excréta collectés au cours du temps, permet de mesurer la clairance totale et la part relative de la clairance métabolique et de la contribution des principaux organes d'élimination. La capacité d'élimination d'un principe actif, est exprimée par la clairance totale (ou clairance plasmatique) qui est la somme des différentes clairances (clairance métabolique du foie, clairance d'excrétion biliaire, clairance d'excrétion rénale...). Ces clairances peuvent présenter de grandes variabilités interspécifiques.

Compte tenu de la complexité des étapes impliquées dans la pharmacocinétique d'un antibiotique, les concentrations mesurées à un instant chez différents animaux traités à la même dose, avec le même médicament, par la même voie d'administration, ont une variabilité importante qui s'accroît avec le temps,(Guillemot D., 2006). Les deux principales voies d'élimination sont la voie rénale et la voie biliaire.

L'élimination fait appel aux processus généraux de passage transmembranaire : diffusion passive, filtration, transport actif. Les antibiotiques sont éliminés soit exclusivement par voie rénale, soit exclusivement par transformation métabolique, soit enfin, par des voies à la fois rénale et extra rénale.

Il existe trois possibilités métaboliques pour un antibiotique. Seuls les antibiotiques hydrosolubles peuvent être éliminés directement par le rein (Hadeff L.,2009).

CHAPITRE III

LES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LA VIANDE BLANCHE

Au cours de leur vie, les animaux doivent parfois être traités avec des médicaments destinés à prévenir ou à guérir certaines maladies. Il arrive que des résidus de ces médicaments aboutissent dans des produits alimentaires (viande, lait ou œufs, par exemple) provenant d'animaux producteurs d'aliments tels que bovins, porcins, volailles et poissons. Néanmoins, ces résidus ne doivent pas être nocifs pour les Consommateurs. Afin de garantir un niveau élevé de protection des consommateurs, la législation Communautaire européenne subordonne l'autorisation d'utilisation d'une substance médicamenteuse chez des animaux producteurs d'aliments à l'évaluation de la toxicité des résidus potentiels. Lorsque cela s'avère nécessaire, des limites maximales de résidus (LMR) sont fixées et, dans certains cas, l'utilisation de la substance concernée est interdite (Châtaigner B .et Stevens A ., 2005).

III.1. Les résidus d'antibiotiques

III.1.1. Définition des résidus

Selon le Règlement (CEE) n° 2377/90, on entend par résidus de médicament vétérinaires « toute substance pharmaco logiquement active, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et tissus des animaux après l'administration de médicaments à ces animaux ». Ce sont donc les traces des principes actifs ou leurs métabolites qui subsistent dans les viandes ou autres denrées alimentaires provenant de l'animal auquel le médicament en question a été administré (Ben Youssef S., 2013) .

III.1.2. Origine des résidus

Les résidus sont des substances pouvant apparaître dans les denrées alimentaires par suite de l'utilisation de médicaments vétérinaires ou de produits phytosanitaires. Il s'agit de traces indésirables de médicaments ou de produits phytopharmaceutiques ou de dérivés de ceux-ci dans le produit final (Niyibizi B ., 2012).

III.1.3. Facteurs de persistance des résidus

La persistance de résidus varie selon plusieurs facteurs :

- l'antibiotique lui-même.
- la forme pharmaceutique.
- les modalités d'injection.
- le site d'injection.

- la sévérité de l'irritation locale.
- la dose injectée.

Il existe des différences notables sur ces points entre les différents antibiotiques. (Riana N . et Randriano M ., 2006) .

III.1.4. Conséquences négatives de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux

Les conséquences négatives de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux sont :

- présence de résidus dans les produits alimentaires d'origine animale , ces conséquences sont surtout dues aux mauvaises pratiques :
- produits du marché noir.
- administration sans prescription vétérinaire.
- non respect des doses et des délais d'attente avant l'abattage .

Il existe des différences notables sur ces points entre les différents antibiotiques. Ainsi pour réduire l'incidence de ces résidus, sont conseillées sous forme de « liste positive», l'utilisation sélective de molécules et de certaines formes d'administration (Guillemin N .,2010).

III.2. Les antibiotiques dont l'usage est interdit pour le traitement des animaux dont les productions sont destinés à la consommation humaine

L'emploi de médicaments pour le traitement curatif ou préventif des animaux et comme promoteurs de croissance est de pratique courante. Aux Etats-Unis, environ 80% du bétail et des volailles reçoivent de tels médicaments vétérinaires. Cependant, si les médicaments sont mal utilisés, les résidus qui en résultent dans les tissus consommables des animaux abattus mettent en danger la santé humaine (Crawford LM ., 1985). Le tableau 9 présent les anti-infectieux dont l'usage est interdit pour le traitement des animaux dont les productions sont destinées à la consommation humaine.

Tableau n° 9 : Anti-infectieux dont l'usage est interdit pour le traitement des animaux dont les productions sont destinées à la consommation humaine .

Principe actif	Règlement	Date
Chloramphénicol	1430/94(CCE)	22/06/94
Dapsoné	3426/93(CCE)	14/12/93
Dimétidazole	1798/95(CCE)	25/07/95
Metronidazole	613/98(CCE)	18/10/98
Furazolidones	14402/95(CCE)	26/06/95

Autres nitrofiranes	2901/93(CCE)	18/10/93
Ronidazole	3426/93(CCE)	14/12/92

(Guillemot D ., 2006).

III.3. Le délai d'attente et la limite maximale des résidus

La composition du médicament vétérinaire ainsi que ses conditions d'emploi (voie d'administration, posologie) influencent la pharmacocinétique des résidus, par conséquent, le moment où les concentrations dans les denrées alimentaires sont inférieures à la limite maximale des résidus doit être déterminé. Cet intervalle de temps entre l'administration du médicament et ce moment précis constitue le temps d'attente (Boultif L ., 2009).

III.3.1 Le délai d'attente

III.3.1.1 Définition

Selon la directive 81/851/CEE émise par la communauté européenne, le temps d'attente est défini comme le délai entre la dernière administration à l'animale de l'antibiotique et le moment où celui-ci ne présente plus de résidus dans ses tissus ou dans ses productions (lait, œuf). Le délai d'attente correspond donc à la durée minimale requise entre le dernier traitement de médicaments recommandé et l'abattage ou la collecte d'aliments (exemple : lait et œuf) (Anonyme 01 ., 2003), il est établi pour un schéma thérapeutique bien précis : espèces animales concernées, dose, rythme d'administration, voie d'administration, durée du traitement. Le respect de ce temps d'attente permet de commercialiser les denrées qui présentent des concentrations inférieures ou proches de la limite maximale des résidus garantissant la protection de la santé du consommateur (Abidi K ., 2004 , Sanders P., 2005).

III.3.1.2. Fixation du temps d'attente

Pour fixer le temps d'attente d'une substance, il faut dans ce cas étudier son métabolisme pour connaître les lieux d'accumulation et les voies d'excrétion du composé de départ et de ses métabolites et étudier leur décroissance en fonction du temps. Ce ci nécessite une première investigation avec des molécules marquées, puis de nombreux travaux complémentaires pour identifier les métabolites et mettre au point des méthodes non radioactives pour les doser. Les différents temps d'attente proposés devront assurer qu'il n'y a pas de résidus mesurables dans les productions de l'animal vivant (lait, œufs) ou dans les denrées alimentaires obtenues après l'abattage (Milhaud G ., 1978). Le délai d'attente de quelques antibiotiques chez différents animaux est résumé dans le tableau 10 .

Tableau n° 10 : délai d'attente de quelques antibiotiques .

Antibiotique	Animaux de boucherie	Animaux Laitiers	Volailles pondeuses (œufs)
Oxytétracycline	2 semaines	1 semaine	
Spiromycine	3 semaines	3 semaines	3 jours (Voie orale) 3 semaines (Autres voies)
Oléandomycine	Voie orale 5 jours	5 jours	
Tylosine	3 semaines	3 semaines	3 jours (voie orale) 2 semaines (formes injectables)
Poly myxine B	Voie orale 3 jours Autres voies 1 mois		

(Milhaud G ., 1978).

III.3.1.3. Méthodes de calcul du temps d'attente

Le calcul du temps d'attente se fait à partir des résultats des études de déplétion des résidus. Il y a deux groupes de méthodes :

- ✓ Les méthodes statistiques .
- ✓ Les méthodes traditionnelles, dites simplifiées, dites aussi pragmatiques.

Par souci de simplification du langage, nous parlerons de « la méthode statistique » et de « la méthode pragmatique ». Seul le calcul du temps d'attente « viande et abats » sera décrit (Stoltz R ., 2008).

III.3.1.3.1. La méthode statistique

La méthode statistique est la méthode la plus fiable scientifiquement et elle a l'avantage de permettre une harmonisation des méthodes de calcul du temps d'attente entre les différentes législations nationales des pays de l'Union Européenne . Mais elle est contraignante sur la quantité de données à générer nécessitant des études incluant de nombreux animaux. Elle repose sur l'hypothèse, le plus souvent vérifiée, que les quantités de résidus dans les tissus décroissent à vitesse constante, et une doit être utilisée en priorité par rapport à la méthode pragmatique. Si la méthode statistique ne peut pas être utilisée et que le recours à la méthode pragmatique s'avère nécessaire, une justification est nécessaire (Stoltz R ., 2008).

III.3.1.3.2. La méthode pragmatique

La méthode pragmatique a été la méthode utilisée pendant long temps pour le calcul des temps d'attente, d'où le nom de méthode traditionnelle. Elle repose sur une analyse empirique des données. Les animaux sont abattus à différentes dates après la dernière administration effectuée selon le protocole thérapeutique qui sera proposé dans le dossier d'AMM. Les résidus sont alors dosés dans les différents tissus. La date d'abattage la plus proche, pour laquelle toutes les concentrations résiduelles sont inférieures aux LMR, additionnée d'une marge de sécurité le plus souvent de 30 %, détermine le temps d'attente. Cette méthode de fixation des temps d'attente présente l'avantage de nécessiter peu d'animaux dans les études de déplétion des résidus et d'être souvent plus sécuritaire pour le consommateur que la méthode statistique en établissant des temps d'attente plus long. Cependant, cette méthode est peu reproductible d'un lot d'animaux à l'autre. Il suffit en effet d'augmenter le nombre d'animaux dans une étude pour que statistiquement le temps d'attente (Stoltz R., 2008).

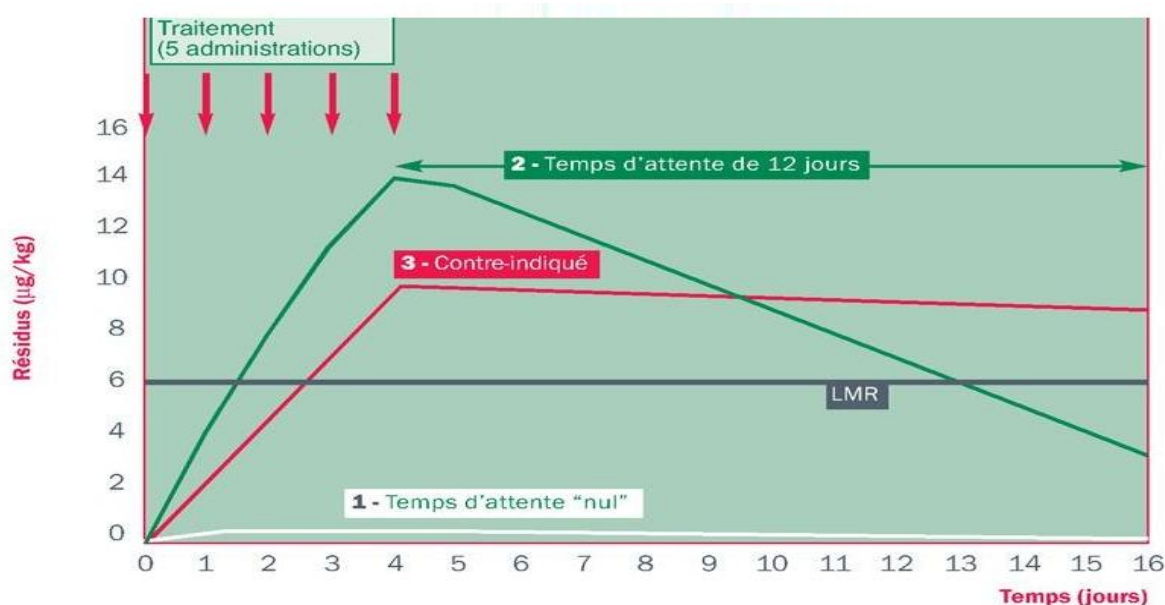


Figure n° 5 : Le calcul du temps d'attente (C I V .,2008)

Trois cas de figures peuvent se présenter pour la fixation d'un temps d'attente :

1 - Les résidus peuvent être en dessous de la LMR immédiatement après la dernière administration. Dans ce cas, le temps d'attente est théoriquement de zéro jour, mais, le plus souvent, il est fixe par précaution à 12 ou 24 heures pour éviter que l'animal puisse être abattu immédiatement après le traitement. Pour les médicaments qui ne contiennent pas de substances chimiques susceptibles de laisser des résidus, comme les vaccins par exemple, la détermination d'un temps d'attente est dite (sans objet).

2 - Les résidus se retrouvent en quantités inférieures aux LMR après (x) jours. Le temps d'attente est alors au minimum de (x) jours, mais, par précaution,

il est généralement allongé, de l'ordre de 30 %, ou en prenant en compte une approche statistique pour garantir que sur l'ensemble des animaux traités et abattus, le risque qu'une denrée présente des résidus en quantité supérieure à la LMR est minimal. Rappelons que le temps d'attente est toujours calculé après la dernière administration du produit. Pour cet exemple, le temps d'attente est de $9 + 3 = 12$ jours.

3 - Les résidus persistent trop longtemps au-dessus de la LMR pour être compatibles avec un bon respect des délais d'attente dans les conditions normales des productions animales, la substance est alors contre-indiquée dans cette production (C I V ., 2008).

III.4 . LMR d' antibiotique

III.4.1. La limite maximale de résidus (LMR)

La limite maximale de résidus (LMR) est la concentration maximale en résidus, résultant de l'utilisation d'un médicament vétérinaire (exprimée en mg/Kg ou en µg/Kg de poids vif), que la Communauté Européenne considère sans risque sanitaire pour le consommateur et qui ne doit pas être dépassée dans ou sur les denrées alimentaires (Messai A ., 2006).

Cette limite se base sur des études scientifiques permettant de définir le type et la quantité de résidus considérés comme ne présentant pas de risques d'ordre toxicologique pour la santé humaine (Doses Sans Effets ou DSE), et les possibilités d'élimination par l'organisme humain (Doses éliminables ou Doses Journalièrement Admises notées DJA). C'est donc la concentration maximale en résidus ne présentant aucun risque sanitaire pour le consommateur et qui ne doit pas être dépassée dans ou sur les denrées alimentaires (Laurentie M . et Sanders P ., 2002) .

III.4.2. La LMR Toxicologique

Est définie pour assurer la sécurité du consommateur. Cette notion intègre tous les éléments liés à la toxicité de la molécule à court ou à long terme, quelle que soit la nature des effets observés sur l'individu ou sur sa descendance (Fabre J M . et *al.*, 2006) .

III.4.3. La LMR Bactériologique

Est une limite qui vise, quant à elle, à garantir l'absence d'effet des résidus d'antibiotiques sur la flore digestive humaine. Elle est prise en compte indépendamment du fait que cette modification ait ou non un effet sur l'homme. La LMR finale (officielle) prend la valeur la plus basse entre la LMR toxicologique et bactériologique (Hadeff L ., 2009) .

III.4.1.1. Fixation de la LMR

La fixation des LMR de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale et le temps d'attente sont des conditions préalables, mais non suffisantes, pour l'obtention de l'Autorisation de Mise sur le Marché -AMM-. Les procédures de fixation des LMR sont établies par le règlement (CEE) n° 2377/90 (règlement LMR) (Messai A., 2006).

La notion de LMR constitue une synthèse entre les attentes des consommateurs et les contraintes des producteurs permettant, sans interdire l'utilisation des médicaments, leur utilisation en toute sécurité. Cette LMR est calculée en prenant en compte d'une part le risque toxicologique et, d'autre part, l'effet potentiel des résidus sur la flore digestive de l'homme (Pinault L., 2001).

La LMR toxicologique est définie pour assurer la sécurité du consommateur. Cette notion intègre tous les éléments liés à la toxicité de la molécule à court ou à long terme, quelle que soit la nature des effets observés sur l'individu ou sur sa descendance (Belhadj M T., 2008).

La LMR bactériologique est une limite qui vise, quant à elle, à garantir l'absence d'effet des résidus d'antibiotiques sur la flore digestive humaine. Elle est prise en compte indépendamment du fait que cette modification ait ou non un effet sur l'homme. La LMR finale (officielle) prend la valeur la plus basse entre la LMR toxicologique et bactériologique, la fixation de la LMR s'appuie sur trois notions essentielles :

-recherche de la Dose Sans Effet (DSE) sur l'animal par différents tests biologiques .

-partant de cette DSE et de facteurs de sécurité (100 ou 1000), calcul d'une :

Dose Journalière Admissible (DJA) : consommation inférieure à 1 pour 100 ou pour mille de la concentration qui entraîne un effet (Belhadj M T., 2008) .

- partant de cette DJA, de la connaissance de la consommation alimentaire moyenne des habitants et de l'analyse de la répartition dans les différents tissus et organes, on calcule les LMR (lait, viande...) (Zeghilet N., 2009) .

III.5. Les risques posés par la présence des résidus d'antibiotique dans les viandes blanches

La présence de résidus d'antibiotiques dans les aliments peut constituer des risques pour les consommateurs parmi lesquels la sélection de bactéries pathogènes antibiorésistantes. (Alamedji R B. et al., 2008). Présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origines animales peut être nocive pour la santé du consommateur mais également perturber les industries agro-alimentaires du fait de l'impact de ces substances sur les microorganismes intervenant dans les processus de fermentation (EL Bahri L., 2007).

Les risques présentés par les résidus suite à leur utilisation chez les animaux sont de quatre ordres :

- risques pour la santé publique.
- risques pour la santé animale.
- risques pour l'environnement.
- des risques d'ordre technologique (Scippo M L ., 2008).

III.5.1. Risques pour la sante publique

Les risques pour le consommateur et la Santé Publique liés à la présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires sont:

- risque de toxicité directe.
- risque allergique.
- Risques embryotoxiques et tératogènes .
- risque cancérigène.
- risque de pathologie liée à la modification de la flore digestive.
- risque d'apparition, de sélection et de dissémination de résistances bactériennes aux antibiotiques au sein des populations humaines et animales (Reig M .et Toldra F ., 2008).

III.5.1.1.Toxicité directe

La toxicité directe des résidus d'antibiotiques est assez difficile à mettre en évidence car il s'agit en générale de toxicité chronique. Cette toxicité ne s'exprime qu'après consommation répétée de denrées alimentaires contenant des résidus du même antibiotique, c'est-à-dire qu'après absorption répétée de nombreuses faibles doses de toxique (Jeon .et *al.*, 2008).

Certains scientifiques évoquent alors une possible toxicité hépatique.Les études permettant de montrer la toxicité des résidus d'un antibiotique donné sont longues et coûteuses (Stoltz R ., 2008).

- les antibiotiques dont l'utilisation est actuellement interdite et qui présentent plus de toxicité sont le chloramphénicol et nitrofurannes .
- les nitrofurannes sont soupçonnés de foeto-toxicité.
- certains sulfamides sont foetotoxiques à forte dose. Ces molécules passent dans le lait maternel, et sont toxiques pour les nourrissons de moins d'un mois. Ils ont des Effets néfastes sur le matériel génétique et notamment l'ADN, sur la reproduction, la fertilité, et une toxicité pour le système nerveux, et le système immunitaire (Châtaigner B . et Stevens A ., 2005).

De plus, la molécule antibiotique subit des biotransformations dans l'organisme de l'animal.

Les résidus d'une molécule antibiotique donnée ne sont donc pas tous identiques à la molécule originelle et n'ont donc pas tous les mêmes propriétés. La toxicité de chaque résidu peut être augmentée, diminuée ou modifiée par rapport à la toxicité de la molécule antibiotique originelle. La toxicité des résidus est même susceptible d'être modifiée lors des traitements de conservation ou de préparation culinaire . Le risque de toxicité directe dépend alors de la dose ingérée, de la nature chimique de l'antibiotique initialement administré et de celle des résidus (Châtaigner B .et Stevens A ., 2005) .

III.5.1.2. Risques allergiques liés à la présence de résidus

Les résidus d'antibiotiques sont parfois évoqués comme cause dans les réactions allergiques observées chez l'homme suite à la consommation de denrées d'origine animale.

Dans la grande majorité des cas, les réactions allergiques ont pour origine les composants même de la nourriture et non d'éventuels résidus (Burgat Sacaze V.,1981).

Plusieurs médicaments vétérinaires sont considérés comme ayant des effets allergènes. Deux familles d'antibiotiques sont souvent mises en cause : les bêta-lactamines et les macrolides . En effet, les pénicillines constituent les composés les plus incriminés car des cas d'allergies dus à leurs résidus dans les aliments d'origine animale, ont été scientifiquement prouvés. Peu de macrolides semblent entraîner des allergies . L'effet des résidus est un effet déclenchant et non un effet sensibilisant. Il est vrai que compte tenu des très faibles taux de résidus présents dans l'organisme, comparés aux concentration d'antibiotique administrée lors de traitement ou de prophylaxie, il est très improbable qu'ils soient à l'origine d'une sensibilisation primaire de l'individu. D'autant plus que lorsque les antibiotiques sont administrés par voie orale, ils subissent donc des modifications qui tendent à diminuer leur pouvoir allergène. Les résidus de pénicilline en particuliers forment des complexes avec certaines protéines (albumines) par liaisons covalentes. Ils sont alors masqué par la structure tertiaire de l'albumine et deviennent inaccessibles aux anticorps. Il est donc peu probable que des dérivés significativement immunogènes puissent être formés (Riana N .et Randriano M ., 2006).

III.5.1.3. Risques embryotoxiques et tératogènes

Chez l'homme, il y a différentes causes de malformations :

- ✓ mutations génétiques : 20% .
- ✓ produits chimiques : 4 à 6% .
- ✓ aberrations chromosomiques : 3 à 5% .
- ✓ infections : 2 à 3% .

- ✓ déséquilibres métaboliques : 1 à 2% .
- ✓ radiations : moins de 1% .
- ✓ inconnues : 65 à 70%.

L'existence des risques embryotoxiques et tératogènes avec les résidus de médicaments vétérinaires est controversée. Cependant, s'ils existent, ils devraient être doses dépendantes (Fiscus Mougél F.,1993).

III.5.1.4. risque cancérigène

Certains antibiotiques ont des propriétés carcinogènes connues. Les résidus de ces antibiotiques peuvent avoir un effet carcinogène sur le long terme, suite à une consommation régulière d'aliments contenant ces résidus. Ces antibiotiques ou composés utilisés comme antibiotiques sont alors interdits d'utilisation chez les animaux de production. C'est le cas des nitrofuranes, des nitroimidazoles, du vert malachite utilisé chez les poissons (Stoltz R ., 2008).

Les nitrofuranes, incluant la nitrofurazone, sont des antibiotiques qui sont utilisés en médecine humaine pendant une courte durée chez les patients. Ces molécules sont bien connues comme carcinogènes génotoxiques. L'expérimentation animale a montré que leur utilisation prolongée pouvait être à l'origine de modifications du matériel génétique et de l'apparition de tumeurs. Le pouvoir mutagène et le pouvoir carcinogène potentiels de ces composés proviennent de la nitro-réduction du médicament, conduisant à la formation de métabolites électrophiles et à leur fixation à l'ADN (Stoltz R ., 2008).

Afin de prévenir tout risque cancérigène chez les consommateurs, l'utilisation des nitrofuranes est interdite chez les animaux de rente depuis 1993 en France et dans l'Union Européenne (Règlement 2901/93) ainsi que dans la plupart des pays du monde. La furazolidone a été interdite, chez les animaux de rente, en 1997 en France en raison d'effets sur la santé, notamment la possibilité d'un risque cancérigène en cas de consommation à long terme (AFSSA ., 2006).

III.5.1.5. Risques liés à la modification de la flore digestive par les résidus d'antibiotiques

Certains résidus d'antibiotiques ayant encore une activité contre les bactéries, sont potentiellement capables de modifier la microflore intestinale de l'homme (Corpet D E .et Brugere H B ., 1995). La présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires peut ainsi entraîner un risque d'affaiblissement des barrières microbiologiques et de colonisation de l'intestin par des bactéries pathogènes ou opportunistes.

A- La flore intestinale : effet de barrière et résistance à la colonisation

L'activité des résidus d'antibiotiques peut provoquer la mort de certaines bactéries ou diminuer leur aptitude à proliférer dans l'intestin : vitesse de croissance diminuée, affinité pour un substrat nutritionnel diminuée ou adhésion diminuée. L'atteinte de certaines populations bactériennes qui font partie de la flore normale entraîne le développement d'autres populations bactériennes pouvant être pathogènes ou opportunistes .

Ce phénomène est appelé « abaissement des barrières microbiologiques » ou « diminution de la résistance à la colonisation » (Bouchard E ., 2004) .

L'effet de barrière est ainsi défini comme l'action antagoniste exercée par la microflore envers certaines bactéries, notamment celles qui viennent de l'extérieur (Corpet D E .et Brugere H B ., 1995) .

B- Risque microbiologiques pour le consommateur

L'affaiblissement des barrières microbiologiques peut avoir plusieurs conséquences néfastes pour la Santé Publique ou pour l'individu (Stoltz R ., 2008).

✓ Développement d'une pathologie gastro-intestinale

Une bactérie pathogène, en transit ou présente en petit nombre, peut devenir dominante dans l'écosystème digestif causant une maladie pouvant être grave (*Salmonella*, *Clostridium*, *Campylobacter* sp.) . Par exemple, la clindamycine à dose thérapeutique favorise l'apparition de colite pseudomembraneuse à *Clostridium difficile*. Des traitements thérapeutiques mal conduits favorisent la salmonellose chez les personnes ingérant de l'alimentation contaminée. Certains antibiotiques peuvent également entraîner des diarrhées d'étiologie inconnue, où l'on ne peut pas isoler de pathogène dans les selles (Corpet D E .et Brugere H B ., 1995) .

✓ Déséquilibre ou modification de la flore digestive augmentant le risque d'infection associée

Une bactérie opportuniste, potentiellement pathogène pour certains individus sensibles peut augmenter en nombre dans l'intestin, augmentant le risque d'infection pour l'individu atteint ainsi que le risque de dispersion dans la population. Les bactéries en cause sont des entérobactéries, des pseudomonas, des entérocoques, des staphylocoques, des levures. Les personnes sensibles sont les patients cancéreux immunodéprimés par la chimiothérapie, les patients des unités de soins intensifs infectés via les cathéters, les femmes sujettes à des infections urinaires répétées (Châtaigner B., 2004).

✓ Apparition de souches résistantes aux antibiotiques

Une bactérie résistante aux antibiotiques peut être sélectionnée par un résidu d'antibiotique, soit directement par l'élimination de la bactérie sensible correspondante, soit indirectement par l'affaiblissement des barrières. Les bactéries non pathogènes résistantes aux antibiotiques ne sont pas dangereuses. Cependant, la gravité des infections opportunistes est très augmentée par les résistances. De plus, ces résistances peuvent être transmises à des bactéries pathogènes si leur support génétique est mobilisable (plasmide, transposon) (Stoltz R., 2008).

✓ Modification de l'équilibre de la flore digestive

L'équilibre de la flore peut être modifié de façon significative, mais sans conséquence néfaste. Ainsi, un antibiotique peut faire augmenter la densité d'une population bactérienne sans danger connu (par exemple, *Bifidobacterium* ou *Eubacterium* sp.) ou la rendre plus résistante à l'antibiotique (Corpet D E .et Brugere H B .,1995). Inversement, la densité d'une population bactérienne peut aussi diminuer suite à la présence d'un antibiotique : diminution des aérobies et notamment les *Enterobacteriaceae* en présence de ciprofloxacine (Perrin Guyomard A .et al .,2005).

Le métabolisme de certaines molécules par la flore peut également être modifié par les résidus, sans conséquence néfaste connue (Corpet D E .et Brugere H B .,1995).

III.5.1.6.Risques de développement et de dissémination de résistances bactériennes aux antibiotiques

L'utilisation des antibiotiques en thérapeutique humaine ou vétérinaire s'accompagne de l'apparition de résistances à ces mêmes antibiotiques chez les bactéries ce qui constitue un problème très préoccupant du fait des répercussions directes sur les possibilités thérapeutiques. Il est bien établi que l'usage des antibiotiques est le facteur le plus important dans la sélection de bactéries résistantes même si l'apparition de résistances spontanées a aussi été démontrée . En général, il y a une relation étroite entre la quantité d'antibiotiques utilisée et le degré de développement des résistances (Chataigner B ., 2004).

Dans le domaine vétérinaire, un suivi de la résistance aux antibiotiques en filière de production animale est réalisé par un réseau unique . Des plans de surveillance de la résistance aux antibiotiques chez des bactéries indicatrices isolées de la flore intestinale des porcs et des volailles, sont menés l'analyse des résultats permet d'apprécier l'impact de l'usage des antibiotiques sur la résistance bactérienne chez l'animal de rente, l'importance et l'évolution de cette résistance (Sanders P .et al., 2002).

En ce qui concerne les résidus d'antibiotiques, éventuellement présents dans les denrées alimentaires d'origine animale, ces doses très faibles d'antibiotique et de métabolite d'antibiotique pourraient encore avoir une action sur les bactéries présentes dans le tube digestif du consommateur. Ceci pourrait représenter un risque pour la Santé Publique en favorisant le développement et la dissémination de résistances bactériennes chez l'homme (Tao S H .et Poumeyrol M ., 1985).

III.5.1.7. Risques de résistances aux antibiotiques

Le facteur le plus important dans la sélection de bactéries résistantes est généralement admis comme étant l'usage d'antibiotique. Cependant, il est impossible de faire la différence entre une antibiorésistance induite par les médicaments (ou résidus) vétérinaires d'une autre due à la médication chez l'homme. De plus, il faut noter la place de l'antibiosupplémentation (utilisation d'antibiotiques à très faible dose dans l'alimentation animale) (Teale C J ., 2002).

Ces antibactériens promoteurs de croissance sont analogues à ceux utilisés en médecine humaine et comportent des résistances croisées avec eux. Les animaux qui les consomment rejettent donc une grande quantité de bactéries résistantes dans leurs fèces. Ces germes sont alors transférés aux hommes par voie directe ou indirecte via les aliments d'origine animale. Ils colonisent ainsi directement le tube digestif de l'homme ou échangent leurs gènes de résistance avec des bactéries commensales de l'intestin , (Teale CJ ., 2002) . En effet, prenons par exemple, les antibiotiques utilisés comme promoteurs de croissance, ils sont analogues à ceux utilisés en médecine humaine et comportent des résistances croisées avec eux. Les animaux qui les consomment rejettent donc une grande quantité de bactéries résistantes dans leurs fèces. Et celles-ci sont transférées aux hommes par voie direct ou indirecte via les aliments d'origine animale. Elles colonisent ainsi directement le tube digestif de l'homme ou échangent leurs gènes de résistance avec des bactéries commensales de l'intestin (qui sont elles mêmes potentiellement pathogènes), (Riana N .et Randriano M ., 2006).

III.5.1.7.1. définition de la résistance

La résistance aux antibiotiques peut être définie selon différents points de vue.

- Pour le clinicien, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si le traitement n'est pas efficace.
- Pour le pharmacologue, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si les concentrations atteintes au site d'action, sont inférieures à la concentration minimale inhibitrice.

- Pour le microbiologiste, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si elle dispose d'un mécanisme de résistance augmentant la valeur de la concentration minimale inhibitrice.
- Pour l'épidémiologiste, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si elle a une concentration minimale inhibitrice significativement différente de celles de la population normale (AFSSA., 2006).

III.5.1.7.2 . Mécanismes de résistance

Les mécanismes de résistance sont variés, mais on peut les classer en quatre catégories Principales (AFSSA., 2006) :

a) Brouillage : produire des enzymes capables d'inactiver les antibiotique

Ce mécanisme est basé sur la destruction d'un antibiotique avant même que celui-ci pénètre la cellule. Il se produit via la sécrétion par la bactérie d'une enzyme capable de détruire des liens chimiques nécessaires à l'intégrité fonctionnelle du médicament. C'est donc une stratégie offensive par laquelle la bactérie inactive l'antibiotique. Les bêta-lactamases sont un exemple d'enzymes produites par les bactéries qui inactivent les B-lactamines telles les pénicillines et les céphalosporines. D'autres catégories d'enzymes inactivent plus précisément les aminosides ou d'autres d'antibiotiques, incluant le chloramphénicol et la fosfomycine (Bornert G., 2000).

b) Blindage et efflux : se rendre imperméable à la pénétration de l'antibiotique ou le rejeter

Nous avons vu que la membrane externe des bactéries à Gram négatif contient des porines, sortes de protéines qui forment des canaux permettant le passage de plusieurs types de molécules, dont tire également profit la pénicilline. Le mécanisme de résistance appelé « blindage » consiste donc pour la bactérie à modifier le nombre de ses porines et/ou la spécificité de celles-ci. Par exemple, si le nombre de porines diminue, l'antibiotique aura plus de difficultés à entrer dans la cellule. Si les porines deviennent imperméables à certaines substances, cela aura comme effet d'en réduire la pénétration intracellulaire. Il s'agit d'un mécanisme de résistance spécifique aux bactéries à Gram négatif qui n'affecte pas les bactéries à Gram positif puisque chez ces dernières l'antibiotique peut circuler librement à travers la paroi cellulaire et membrane cytoplasmique. S'il appert que l'antibiotique pénètre une cellule, il existe également un mécanisme qui amène la bactérie à rejeter ce dernier à l'extérieur, l'empêchant ainsi d'atteindre sa cible. La concentration d'antibiotique demeure insuffisante pour être toxique. On appelle ce mécanisme « efflux actif ». La bactérie réussit

cet exploit à l'aide de pompes moléculaires. La tétracycline est un exemple d'antibiotique contrôlé de cette façon (Fournier V., 2003).

c) Camouflage : modifier la structure des cellules cibles des antibiotiques

Il faut comprendre d'abord qu'un antibiotique n'attaque pas n'importe quoi sur une bactérie. Pour être efficace, un antibiotique doit se fixer à une cible cellulaire. Si la bactérie remplace ou modifie cette cible, l'action de l'antibiotique sera réduite puisqu'il ne pourra plus s'y fixer. Ce type de résistance est retrouvé entre autres contre les macrolides (ex. érythromycine) (Fournier V., 2003).

d) Esquive ou stratégie de contournement

Dans cette situation, l'antibiotique atteint sa cible. Cependant, la bactérie est capable d'utiliser d'autres voies métaboliques pour exécuter le même travail. Les activités inhibées par l'antibiotique sont donc remplacées. Les bactéries utilisent cette stratégie contre les sulfamides et les glycopeptides (Fournier V., 2003, Reeves P T .,2007).



Figure n° 6 : Les quatre stratégies de la résistance aux antibiotiques (Zeghilet N ., 2009).

On distingue la résistance naturelle ou intrinsèque et la résistance acquise. La première est présente dans toutes les souches de l'espèce considérée et préexiste à l'usage des antibiotiques. Elle constitue une caractéristique propre à l'espèce et délimite le spectre d'activité des antibiotiques.

En revanche, la résistance acquise n'est présente que chez quelques souches d'une espèce normalement sensible et apparaît à la suite de l'utilisation des antibiotiques. Sur le plan génétique, deux mécanismes ont été identifiés :

- soit une mutation génétique survient sur le chromosome bactérien en présence répétée avec des antibiotiques ; dans ce cas, la résistance est transmise uniquement à la descendance (transmission verticale).
- soit la bactérie acquiert une information génétique provenant d'une autre bactérie déjà résistante via des plasmides ou des transposons ; dans ce cas, la résistance se transmet aussi d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) et d'une espèce à l'autre. Le tableau 11 indique la résistance de quelques bactéries aux antibiotiques.

Tableau n° 11: Résistance des bactéries aux antibiotiques:

Bactéries	Résistance
Salmonella	Salmonella Typhimurium DT 104 résistante à plus de 9 antibiotiques. présente dans la viande.
Escherichia Coli	Sulfamidés, 70 % des E.Coli.
Campylobacter	Fluoroquinolones, tétracyclines, macrolides
Staphylococcus auréus	Résistance à la vancomycine.
Pseudomonas	Fluoroquinolones, gentamycine.
Enterococci	Résistance à la vancomycine, gentamycine, B-lactamines, glycopeptides.

(Hadeif L., 2009).

III.5.1.8. Les autres effets pour l'homme dus à la présence de résidus d'antibiotiques

Les autres effets potentiellement dus aux résidus sont d'ordre toxicologique et pharmacologique. On note entre autre une influence sur la flore intestinale humaine :

- en modifiant sa composition par inhibition sélective.
- en favorisant ou en sélectionnant des microorganismes résistants.

Mais il n'y a pas de preuves scientifiques que des concentrations en résidus inférieures aux LMR puissent modifier sérieusement la flore intestinale. Ainsi certaines molécules comme le chloramphénicol, sont interdites en Europe sur les animaux de rente, en raison du risque potentiel d'apparition d'effets secondaires tels que des formes idiosyncratiques d'anémie aplasique chez l'homme. Cet effet secondaire a été mis en évidence non seulement lors de traitements systémiques mais aussi lors d'application locale et même lors d'exposition professionnelle (Scippo M L., 2008).

Des études *in vivo* sur des modèle animaux visant à évaluer les effets de doses thérapeutiques et de résidus de tétracycline sur la flore intestinale humaine ont mis en évidence les modifications engendrées sur la flore intestinale. Il y a effectivement eu une sélection de bactéries résistantes à la tétracycline, ainsi qu'un effet sur les populations fécales aérobies et anaérobies, sans compter les modification de certains paramètres métaboliques de la microflore. Par contre, la barrière contre les salmonelle exogènes a été maintenue (Châtaigner B .et Stevens A., 2005). On note aussi une action cancérigène (certains médicaments ou les produits de leur métabolisme sont cancérigènes).

L'ingestion répétée et prolongée de ces produits peut induire le développement de tumeurs cancéreuses (Zeghilet N., 2009).

II.5.2. Risques pour la sante animale

Les antibiotiques utilisés en thérapeutique possèdent en règle générale une faible toxicité. Ceci les différenciés des antiseptiques externes qui ne peuvent en aucun cas être employés par voie générale. Néanmoins, certains antibiotiques présentent une forte toxicité générale qui empêche leur emploi dans beaucoup d'espèces animales. C'est le cas des antibiotiques ionophores (monensin) qui présentent une toxicité cardiaque majeure. En dehors des toxicités directes d'organe spécifique à chaque antibiotique, toute antibiothérapie doit faire craindre au praticien surtout deux types d'effets indésirables, une perturbation de la flore dige²stive et des échecs thérapeutiques par sélection de résistance (Zeghilet N., 2009).

III.5.3. Risques d'ordre technologique

la présence d'antibiotiques dans la viande entraîne des accidents de fabrication du salami et autres produits de fermentation de la viande (Hadeb L ., 2009) .

III.5.4. Risques pour l'environnement

Il est aujourd'hui admis qu'après un traitement antibiotique, les animaux excrètent dans leur environnement une fraction de la dose administrée (présente notamment dans les fumiers ou les lisiers, ainsi que dans les poussières en suspension avant d'être dégradée plus ou moins rapidement dans les fosses de rétention) (Chatellet M C ., 2007). En effet, on constate de fortes disparités dans le temps de demi-vie selon la molécule: la tylosine, par exemple, est dégradée beaucoup plus rapidement que l'oxytétracycline, détectable dans le fumier de veaux traités pendant 5 mois contre moins de 45 jours pour la tylosine. Ceci implique une persistance longue de certains antibiotiques dans l'environnement, ces derniers pouvant alors être présents dans les eaux de surface ou les rivières (Zeghilet N ., 2009).

Ceci conduit donc à une pollution chimique de l'environnement, avec une action sur la flore microbienne pouvant être la même que sur la flore commensale, d'autant plus que les antibiotiques excrétés le sont à des doses très inférieures à la Concentration Minimale Inhibitrice. L'administration d'antibiotiques, par la sélection de mutants résistants dans la flore intestinale des animaux traités, peut avoir des conséquences indirectes sur l'environnement par la défécation, les animaux excrètent certains de ces mutants, qui peuvent alors, par les mécanismes génétiques de transfert de résistance déjà évoqués plus haut, transmettre leurs mécanismes d'échappement aux bactéries environnementales. Ces mutants peuvent accidentellement contaminer les denrées alimentaires, c'est ainsi qu'après l'utilisation, entre 1983 et 1990, de la streptothricine en ex-Allemagne de l'est pour l'alimentation animale, les premières souches résistantes d'E. Coli apparues deux ans plus tard, ont transmis leur gène de résistance par l'intermédiaire d'un transposon, aboutissant à l'émergence de mutants résistants à l'antibiotique chez les porcs mais aussi chez les éleveurs et les membres de leur famille. Des souches résistantes d'E. Coli sont fréquemment retrouvées lors de l'analyse des eaux usées, et il est prouvé que ces dernières peuvent très bien y survivre, et échanger entre elles des plasmides porteurs de gènes de résistance (Chatellet M C ., 2007) .

Les eaux usées sont utilisées pour irriguer, et des bactéries résistantes ont été retrouvées sur des plantations 15 jours après qu'elles eurent été arrosées. De plus, un animal peut se contaminer en s'abreuvant aux eaux de surface. De la même façon, des bactéries d'origine fécale sont épanchées avec le fumier, et par conjugaison peuvent transmettre leurs éventuels gènes de résistance aux bactéries du sol. L'utilisation des antibiotiques en élevage représente donc un risque de sélection de résistance chez les bactéries environnementales (Chatellet M C ., 2007) .

Un autre problème doit faire l'objet d'une évaluation, celui de la relation avec la présence de bactéries antibiorésistantes. Rappelons tout d'abord que l'antibiorésistance est un phénomène naturel et que des bactéries antibiorésistantes se retrouvent dans des environnements non contaminés par les usages d'antibiotiques. Parmi les sources de transfert à l'homme de ces bactéries résistantes, l'eau n'est qu'un des vecteurs. Dans des eaux usées d'élevages (Haguenoer J M ., 2008).

III. 6. Evaluation des résidus d'antibiotique

Comme pour toute analyse de risque, celle des résidus commence par une étape d'évaluation scientifique qui s'attache à identifier et caractériser les dangers et notamment à évaluer la toxicité des résidus pour l'Homme à court, moyen ou long terme.

Ces études scientifiques permettent de déterminer une dose journalière admissible (DJA) ou tolérable (DJT), qui correspond à la dose maximale de résidus pouvant être ingérée quotidiennement par un consommateur, sans danger pour sa santé, y compris à long terme. Dans un deuxième temps, à partir de la DJA d'une substance chimique, la gestion du risque consiste à fixer les limites maximales de résidus (LMR) de cette substance dans les différentes denrées alimentaires. Le but est que la DJA ne soit jamais atteinte, même pour un fort consommateur de certains groupes d'aliments. Lorsqu'un médicament vétérinaire est utilisé pour soigner un animal de boucherie malade, le respect obligatoire d'un délai, appelé délai ou temps d'attente, entre la dernière administration du médicament à l'animal et l'abattage de celui-ci, permet de s'assurer que les résidus pouvant être présents dans les viandes ou les abats au moment de l'abattage seront toujours en quantités inférieures aux limites maximales autorisées (Pinault L., 2001).

L'analyse des risques est primordiale pour la santé de l'animal et celle du consommateur, il s'agit d'un processus comportant trois volets :

- l'appréciation des risques.
- la gestion des risques, consistant à prendre les décisions pour la maîtrise des risques et à contrôler l'efficacité des mesures mises en œuvre.
- la communication sur les risques entre les différents acteurs de l'évaluation et de la gestion des risques, les professionnels du secteur alimentaire et les consommateurs et citoyens. la source: (C I V., 2008)

III. 6.1. L'appréciation des risques

C'est un processus à base scientifique en 4 étapes :

III. 6.1.1. L'identification des dangers

Il a pour objet d'identifier les résidus médicamenteux (nature, concentration et éventuellement biodisponibilité) susceptibles de provoquer des effets adverses pour la santé et qui peuvent être présents dans un aliment (Sachot D. et Puyt J D., 2001).

III. 6.1.2. La caractérisation des dangers

Elle consiste à évaluer le potentiel toxique (nature, relations dose/effet) et les autres effets défavorables éventuels des résidus qui seront effectivement présents dans les denrées destinées à l'alimentation de l'homme. Le premier objectif de cette étape est la connaissance de la relation dose-réponse qui doit être établie expérimentalement en grande partie sur l'animal de laboratoire et qui permet de déterminer une Dose Sans Effet (DSE). Son second objectif est l'établissement d'une Dose Journalière Acceptable (DJA) pour l'homme

par extrapolation des résultats de l'évaluation expérimentale ayant conduit à la DSE (Sachot D. et Puyt J D ., 2001).

III. 6.1.3. L'évaluation de l'exposition

C'est l'estimation qualitative et quantitative de l'ingestion probable des résidus médicamenteux par le biais des aliments ou de l'exposition à d'autres sources le cas échéant (Sachot D .et Puyt J D., 2001).

III. 6.1.4. La caractérisation des risques

Qui consiste enfin à estimer qualitativement et/ou quantitativement la probabilité de fréquence et de la gravité des effets adverses connus ou potentiels sur la santé susceptibles de se produire dans une population donnée sur la base des trois précédents points. Il convient ici d'estimer les conditions d'utilisation de la substance médicamenteuse et les résidus acceptables compte tenu du niveau de risque acceptable pour le consommateur. C'est à cette étape que l'on aboutit ainsi à la proposition d'une ou plusieurs LMR compatibles avec les bonnes pratiques d'utilisation des médicaments vétérinaires qui permettent de garantir sur la base des ingrédients alimentaires retenus de garantir que les valeurs de DJA ne soient pas dépassées (Sachot D .et Puyt J D ., 2001).

III. 6.2. La gestion des risques

C'est le processus consistant à mettre en balance les différentes politiques possibles compte tenu des résultats de l'appréciation des risques et au besoin, à choisir et à mettre en œuvre les mesures de contrôle appropriées et les mesures réglementaires. Entre notamment dans cette partie le choix des valeurs des facteurs de sécurité utilisés pour le calcul des LMR (Sachot D .et Puyt J D ., 2001).

III. 6.3. La Communication Sur Les Risques

C'est définie comme étant un échange interactif d'informations et d'opinions sur les risques entre les responsables de leur appréciation et de leur gestion, les consommateurs et les autres parties intéressées. Cette procédure vise les médicaments vétérinaires destinés aux animaux dont les productions sont destinées à la consommation humaine ; elle est définie dans ce cas par le règlement (CEE) n° 2377/90 et l'arrêté du 4 septembre 1994. Mais une démarche similaire est suivie avec d'autres contaminants alimentaires potentiels tels que les résidus de produits phytosanitaires ou des contaminants de l'environnement tels que des métaux (Zeghilet N ., 2009).

CHAPITRE IV

LES METHODES DE DETECTION ET DE QUANTIFICATION DES RESIDUS DES ANTIBIOTIQUES DANS LA VIANDE BLANCHE

Le contrôle des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale s'effectue en deux étapes avec la recherche d'un effet antibiotique par une méthode de dépistage (microbiologique, immunologique ou physico-chimique) et la confirmation de la présence de l'antibiotique par une méthode physico-chimique (chromatographie liquide couplée à la détection UV, fluorimétrie ou la spectrométrie de masse) (Guillemot D., 2006).

Le contrôle de ces résidus dans les denrées alimentaires est un processus complexe et coûteux. Mais il est indispensable pour garantir :

- ✚ la protection de la santé publique.
- ✚ le respect des règles qui régissent le commerce.
- ✚ la production de matières premières de qualité pour l'industrie agroalimentaire.

Toutefois, un examen en vue de la détection de résidus d'antibiotiques est effectué lors de chaque examen bactériologique de la viande. Les recherches des résidus de ces substances sont effectuées en cas de suspicion ou par sondage (Scippo M L., 2008).

IV .1. Historique et évolution des méthodes de détection dans le temps

L'utilisation des tests de détection des inhibiteurs est très ancienne, les premiers tests ont été utilisés quelques années après l'apparition des antibiotiques (Brouillet P., 2002).

Dés 1952, le premier test de détection des inhibiteurs dans le lait était mis au point, ils étaient fondés sur l'inhibition du développement de différentes souches de bactéries (Fabre J M .et al., 2002) selon ce dernier, deux voies de recherche ont été explorées :

- ✚ les recherches microbiologiques ont été améliorées en sélectionnant des souches et en modifiant les milieux de culture pour augmenter la sensibilité à certains antibiotiques et élargir le spectre,
- ✚ de nouvelles méthodes (immuno-enzymatique,...) ont été mises au point pour diminuer le temps d'analyse).

IV .2. Méthodes de détection (dépistage)

Les méthodes biologiques/biochimiques de dépistage des résidus des antibiotiques sont généralement rapides et peu coûteuses. Elles permettent de traiter un grand nombre d'échantillons.

Elles doivent avoir des limites de détection suffisamment basses (inférieures aux LMR ou aux niveaux minimum de performance requise).

Comme toute méthode de dépistage, elles ne doivent engendrer qu'un faible nombre de faux négatifs (échantillons faussement conformes) et un nombre limité de résultats faussement positifs pour rester attrayantes d'un point de vue économique, les résultats positifs enregistrés en pratiquant ces méthodes de dépistage devant être nécessairement confirmés par des méthodes chromatographiques plus fiables comme celles qui associent chromatographie (en phase gazeuse ou liquide) couplées à la spectrométrie de masse (SM),

Elles devraient aussi permettre la mise en évidence de nouvelles molécules et déboucher sur des méthodes de dépistage rapides utilisables sur le terrain par le vétérinaire, (SM), (Scippo M L .et Maghuin-Rogister G., 2006).

Pour rendre la stratégie de contrôle des résidus plus efficace, il faudrait idéalement établir un plan en quatre phases :

IV .2.1. Phase 1: le pré- screening (test de premier dépistage)

Cette étape est déjà opérationnelle dans le contrôle sanitaire et ces tests sont effectués dans des laboratoires agréés. Il s'agit du test, pratiqué sur les reins des animaux d'abattoir, connu sous le nom de test rénal ou nouveau test rénal belge Le test de dépistage utilisé actuellement, permet uniquement de détecter la présence d'antibactériens dans les échantillons (Maghuin-Rogister G. et *al.*, 2001 , Scippo M L., 2008).

IV .2.1.1. Test rénal

Actuellement, le test appliqué pour déterminer si un échantillon est positif ou négatif, est le test rénal belge (figure 7). Ce test microbiologique de pré-screening (premier dépistage), appliqué sur les reins des animaux abattus, se base sur l'activité antimicrobienne des antibiotiques. Il permet uniquement de détecter la présence de substances inhibitrices dans l'exsudat rénal.

Mais il ne permet pas d'identifier la substance concernée et encore moins de la quantifier dans les parties consommables de la carcasse et en particulier dans la viande (Maghuin-Rogister G., 2001).

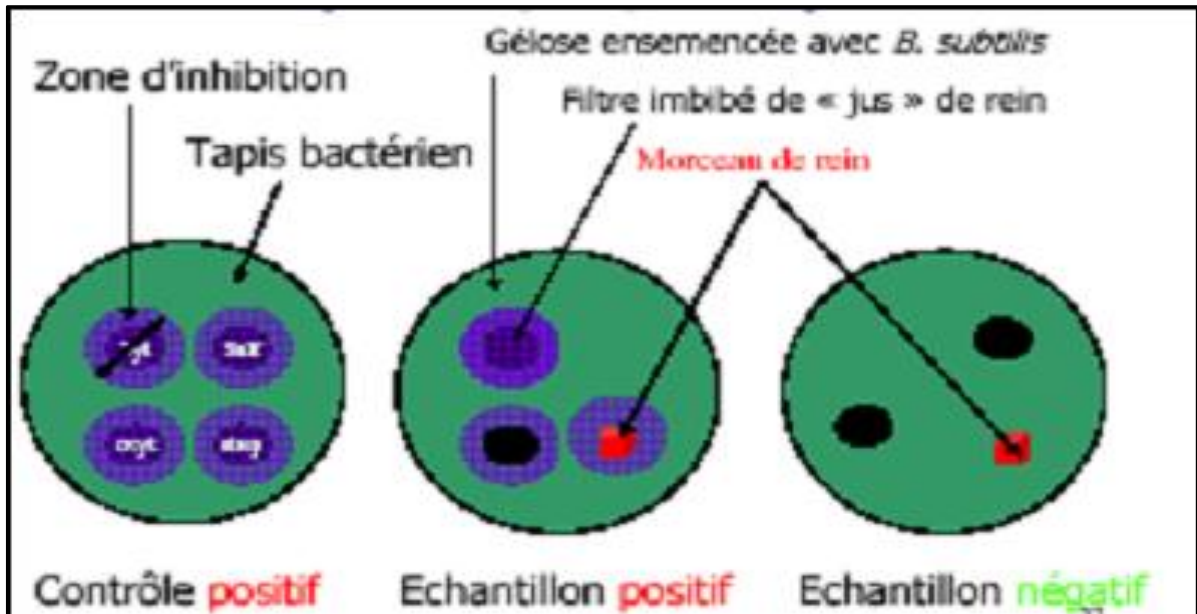


Figure n° 7: Test rénal (Hadeif L., 2009)

IV .2.1.2. Premi test

Développé par DSM, le Premi test, permet de détecter les résidus d'antibiotiques présentes dans la viande fraîche, la charcuterie, les reins, le poisson et les œufs.

C'est un test à large spectre, il détecte un grand nombre d'antibiotiques couramment utilisés pour la viande, sur du jus de viande (extrait par pressage d'un morceau de viande) , Au bout de 4 heures, il donne un résultat fiable (Eloit M ., 2004).

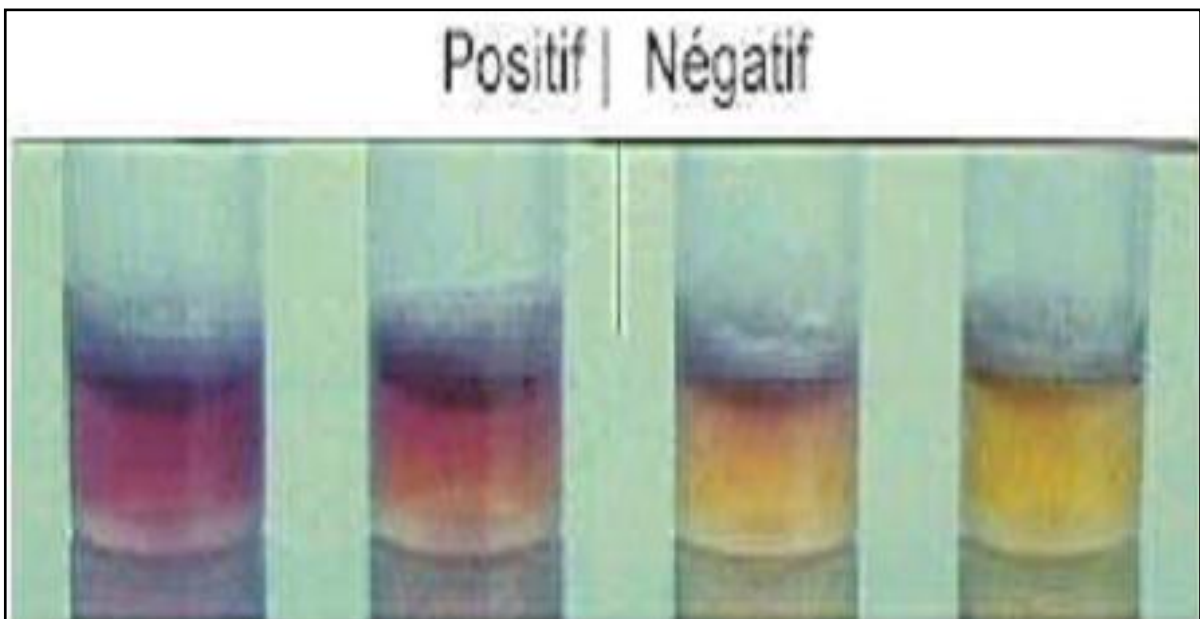


Figure n° 8: plage de couleurs de Premi Test (Gaudin V .et al ., 2006).

Le Premi Test est un test basé sur l'inhibition de la croissance du *Bacillus stearothermophilus* inclus dans de la gélose nutritive. Cette bactérie est sensible à de nombreuses familles d'antibiotiques et aux sulfamides. (Biopharm R., 2011).

Ont montré, lors d'études de validation de la méthode sur de la volaille que les limites de détection du Premi Test sont égales ou supérieures aux LMRs pour la plupart des antibiotiques (macrolides, tétracyclines, sulfamides), avec les limites de détection les plus basses pour les β -lactamines. Depuis 2006, elle est reconnue comme une méthode officielle dans de nombreux pays comme la France (DGAL/SDRRCC/N2006-8240) et est validée par l'Agence Française de Normalisation, (Popelka P. et al., 2005).

Chaque antibiotique a un seuil de détection spécifique (Tableau 12).

Tableau n° 12: Seuils de détection du Premi Test (microgrammes / kilo).

Antibiotiques	Volaille, Bovins	LMR viande (muscle)
Tétracycline: oxytétracycline Chlorotétracycline, doxycycline	100	100
Pénicilline A : amoxicilline, ampicilline	5	50
Céphalosporine : ceftiofur	100	100 (Bv)
cefquinome	75	50 (Bv)
Aminoside : DHS	1500	500 (Bv)
Néomycine, Gentamicine	300	500
	100	50
Macrolide, Tylosine,	50	100
Erythromycine	100	200
Lincomycine	100	100
Spiramycine	1000	200 (Vol) (BV)
Sulfadiazine	75	100
Quinolone : enrofloxacin	600	100
Fluméquine	100	200 (BV)
		400 (Vol)
Phénicolés : Florfénico	100	100 (Vol)

		200 (BV)
Bacitracine	500	150 (lapins)

(Hadeff L., 2009).

IV .2.1.3. Test européen (méthode des 4 boîtes)

C'est la méthode officielle française de détection des résidus d'antibiotiques dans la viande (généralement sur le rein, test rénal, officiel en Belgique comme test de dépistage des résidus d'antibiotiques) (Biopharm R ., 2011).

Elle a pour objet, à l'aide de microorganismes sensibles, la mise en évidence de résidus de substances à activité antibiotique sans en déterminer leur identité , elle est applicable aux muscles d'animaux de boucherie et volailles, aux muscles et foies de palmipèdes gras, (Gaudin V. et *al.*, 2006 , Scippo M L , Maghuin-Rogister G., 2006).

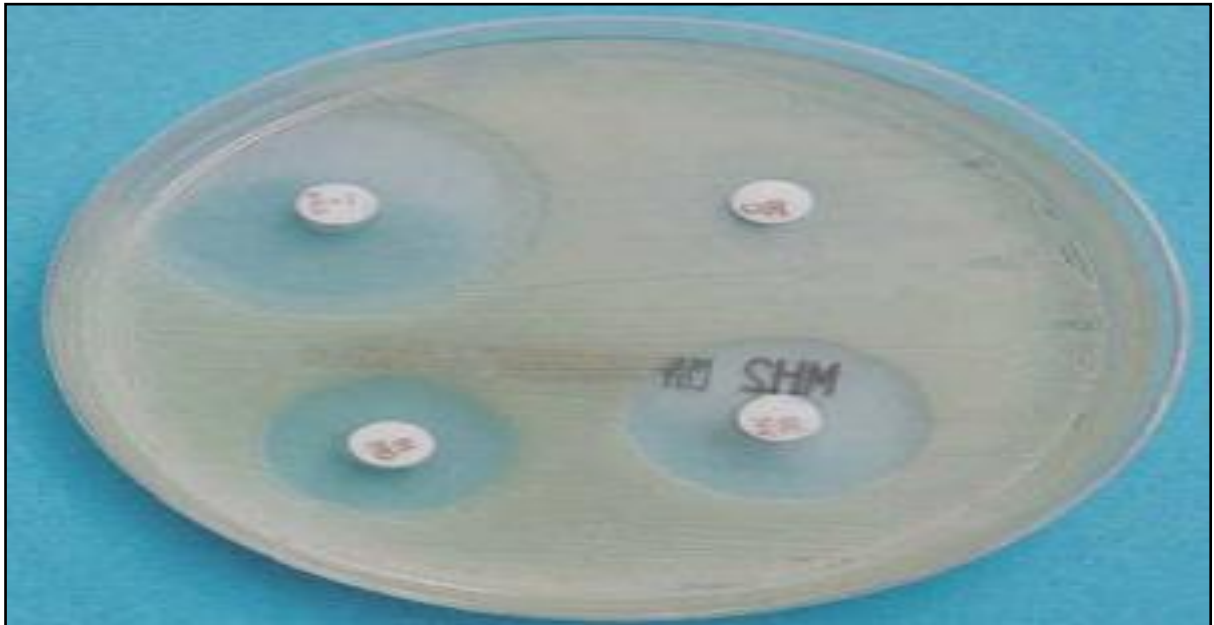


Figure n° 9: Test européen a 4 plaques (Hadeff L., 2009)

IV .2.2. Phase 2: le screening (dépistage sélectif)

Les échantillons donnant une réponse positive lors du pré-screening sont soumis au dépistage sélectif. Lors de ce screening, on tente d'identifier plus précisément la famille à laquelle appartient la substance active repérée. Cette détection se fait au moyen d'immuno essais, ou d'autres tests biochimiques, commercialisés sous différents formats ou encore grâce à d'autres techniques de dépistage comme la chromatographie sur couche mince (Maghuin-rogister G. et *al.*, 2001).

IV .2.2.1. Méthodes biochimiques

✓ Méthode enzymatique (Penzym test)

Ce test qui sert pour la détection des résidus des antibiotiques de type Béta-lactamines (test qualitatif) dans le lait a été adapté à la mise en évidence de ces résidus dans la viande toute en tirant parti de la propriété de l'hydroxylapatite d'adsorber les protéines à faible force ionique et à pH neutre. C'est un test enzymatique colorimétrique, basé sur l'inhibition d'une DD carboxypeptidase par les B-lactames.

Il permet une estimation semi-quantitative des antibiotiques dans la viande à une concentration de 0.016 à 0.018 UI/G.

L'application de ce test à la détermination des antibiotiques dans la viande est entravée par la présence des pigments rouges liés à des protéines (hémoglobine, myoglobine) (Danhaive P., 1986 ,Cité par Zeghilet N.,2009).

✓ Méthode sur tiges (Le test beta star)

Est un test rapide spécifique des bêta lactamines fondé sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or. Par contre, les concentrations élevées en résidus d'antibiotiques autres que les Béta-lactamines ont donné dans tous les cas des résultats positifs, C'est un test très simple d'emploi, la lecture s'effectue sur des bandelettes (figure 10) (Gaudin V. et *al.*, 2006).

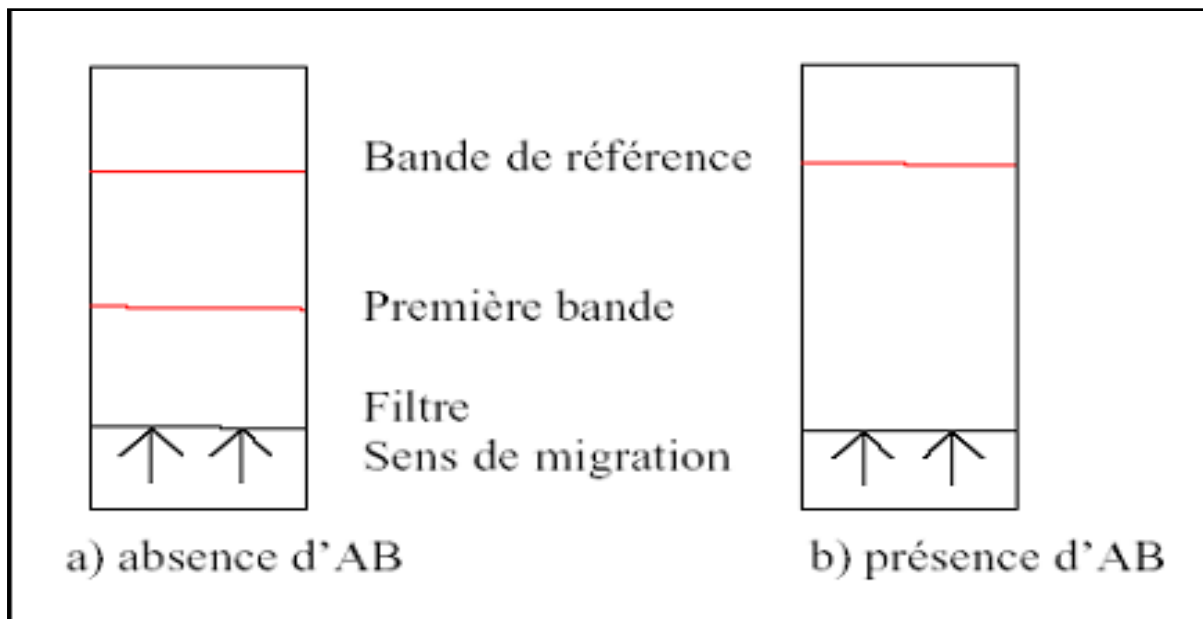


Figure n° 10: Principe de beta -star (Maghuin-rogister G .et *al.*, 2001).

2 situations sont représentées **a)** échantillons sans antibiotique.

b) échantillon avec antibiotique.

IV .2.2.2.Méthodes immunologiques

Il existe plusieurs sortes de tests rapides immunologiques qui détectent les résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires. Sur le marché, les immuno-essais décrits pour l'analyse des antibiotiques sont répartis principalement en 2 groupes. Il y a les tests RIA (Radio Immuno Assay) et les tests ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), (Chebira B., 2009 , Zeghilet N., 2009) .

✓ RIA (radio-immuno assay) et RRA (radio-recepteur assay)

Le Test RIA est basé sur la compétition qui existe entre l'antibiotique marqué par un isotope et ce même antibiotique non marqué présent dans l'échantillon à doser, pour un récepteur bactérien. C'est à dire des bactéries porteuses de sites de liaisons spécifiques vis-à-vis de ces antibiotiques. Une variante du RIA est le RRA(Radio- Recepteur Assay) qui recourt à des récepteurs pour la famille d'antibiotiques envisagée au lieu d'anticorps dans le RIA. Les seuls receptor assays qui sont couramment utilisés pour l'analyse des résidus d'antibiotiques, sont ceux développés par CHARM SCIENCES. le kit appelé Charm II Receptor Assays permet de détecter les β lactames, les tétracyclines, les macrolides, les aminoglycosides et le chloramphénicol dans les échantillons de lait, de viandes, dans les œufs et dans les fluides biologiques.

En général, les tests RRA sont spécifiques à certaines familles d'antibiotiques et sont reproductibles mais ce type de test nécessite l'utilisation d'un compteur de rayons bêta ou gamma, (Maghuin-Rogister G .et al., 2001 , Chebira B., 2009).

(figure 11) résume le principe base des tests immunologiques RIA et RRA

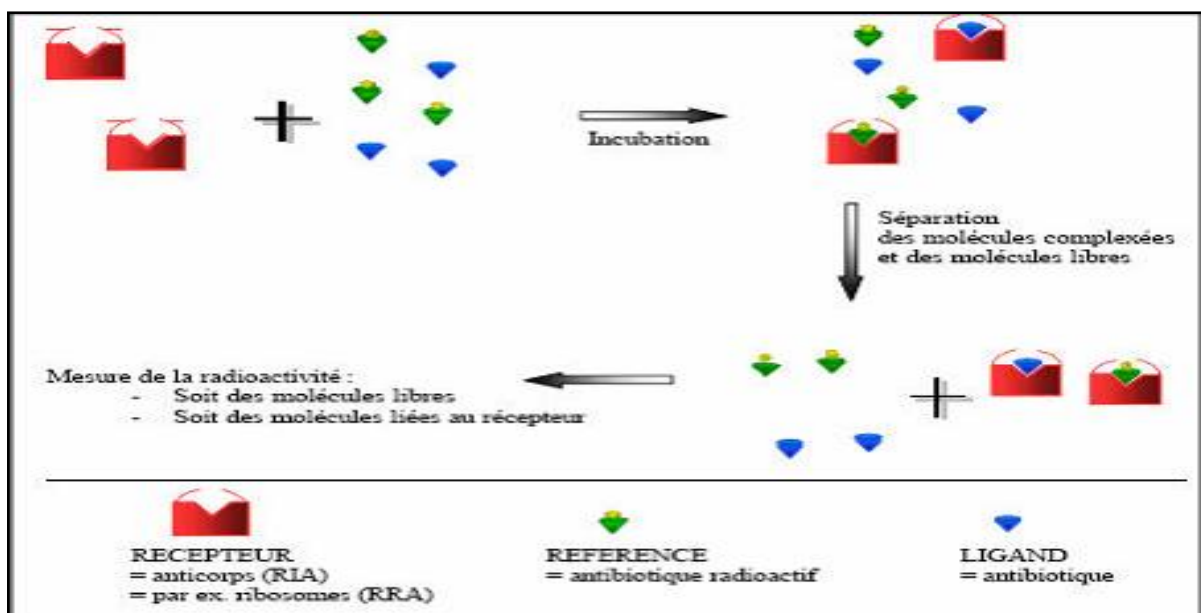


Figure n° 11: Principe a) du RIA et b) du RRA (Maghuin-Rogister G .et al., 2001).

✓ **ELISA (enzyme linked immuno sorbent assay)**

L'ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) est analogue au RIA. Cette fois l'antigène est marqué par un enzyme dont l'activité liée aux anticorps peut être mesurée grâce à une coloration correspondant à la transformation du substrat de l'enzyme en produit (figure12), la réponse est inversement proportionnelle à la concentration en analyte dans l'échantillon .

De nombreux kits de dosage ELISA pour les résidus d'antibiotiques ont été développés (Jenster G .et *al.*, 1992). Elle est cependant dépourvue des inconvénients liés à l'utilisation de la radioactivité , les tests ELISA disponibles dans le commerce entre autres:

- Le LacTek β -lactam, le Cite Probe et le Delvotest .
- Les résultats finaux obtenus sont basés sur un changement de couleur

(Maghuin-Rogister G. et *al.*, 2001). (figure 12) montre le principe de base de l'ELISA.

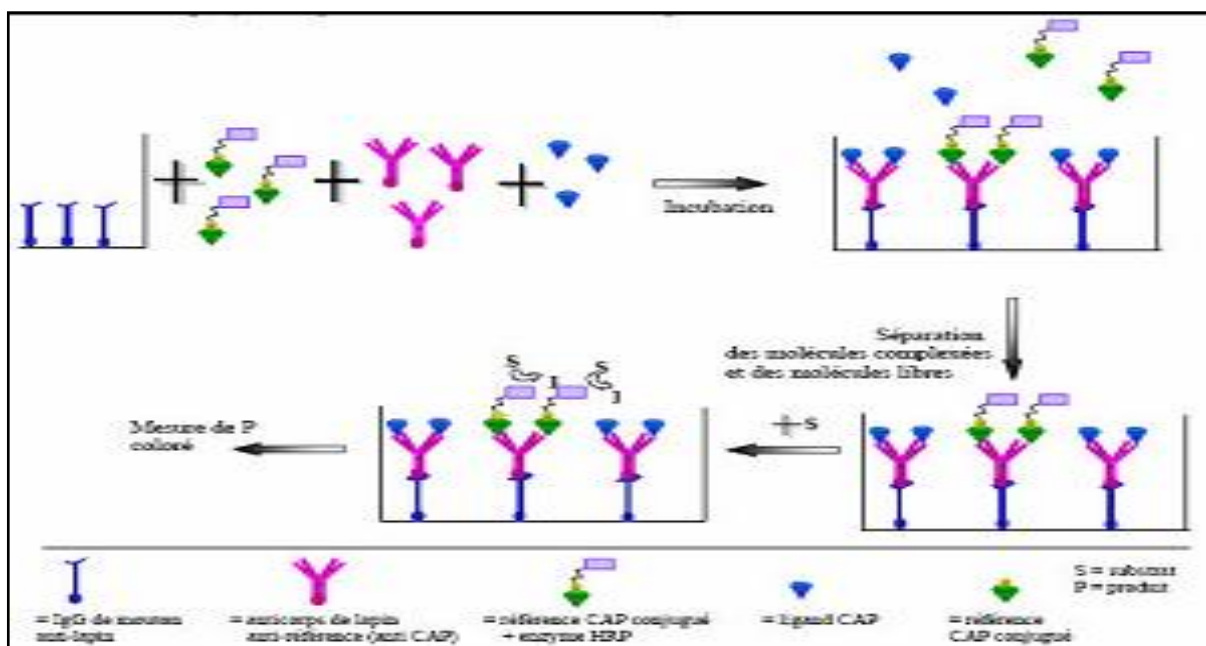


Figure n° 12: Principe c) d'ELISA (Maghuin-Rogister G .et *al.*, 2001) .

IV .3. Méthodes de confirmation et de quantification

IV .3.3. Phase 3: La confirmation et l'identification

Un résultat positif lors d'un test de dépistage doit être considéré comme potentiellement douteux en raison d'interférences possibles (risque de faux positifs). Il doit donc être confirmé au moyen d'une méthode d'analyse dont le principe de détection est différent de celui de la méthode de dépistage.

On entend par identification la distinction de la substance responsable du résultat positif lors du dépistage par rapport à des substances de structures analogues.

Du fait que les valeurs de LMR peuvent varier d'une substance à l'autre au sein d'une même famille d'antibiotiques (par exemple les bêtas lactames) une identification non ambiguë du résidu est indispensable.

Les techniques les plus utilisées, tant pour la confirmation que pour l'identification, sont des chromatographies liquides (LC) couplées à différents détecteurs spectrométriques (LC-UV, LC-MS, LC-MS/MS,...) (Maghuin-rogister G .et *al.*, 2001).

IV .3.3.1. Les méthodes chromatographiques

La plupart des méthodes précédemment citées sont des méthodes plutôt de détection. Ils ne permettent pas de quantifier réellement les résidus d'antibiotiques raison pour laquelle nous avons opté pour la chromatographie liquide haute performance (Hadeef L., 2009).

IV .3.3.2. Définition

La chromatographie est avant tout une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une d'entre elles est constituée par un lit de matériau stationnaire ou fixe, au travers duquel s'infiltrer la deuxième phase mobile (Anonyme 3., 2006).

Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leur adsorption et de leur désorption successives sur la phase stationnaire, soit de leur solubilité différente dans chaque phase, (Lavallaz P. et *al.*, 1994).

Il y a donc une distribution ou partition des composants entre ces deux types de phase; le flux du fluide vecteur étant continu, c'est la rétention plus ou moins longue des différentes molécules sur le support fixe, qui va les séparer les unes des autres .

La proportion de molécule dans la phase stationnaire et mobile dépend des forces d'interaction relatives entre la phase stationnaire et molécules, sauf dans le cas de la chromatographie d'exclusion. (Hadeef L., 2009)

IV .3.3.3. Chromatographie liquide haute performance (HPLC)

La phase stationnaire, constituée de billes de granulométrie entre 3 et 50 μm est compactée sous pression dans une colonne en métal inoxydable. La phase mobile se déplace dans la colonne sous pression à l'aide d'une pompe.

La chromatographie liquide haute performance, utilisés en routine depuis 1995 a réduit au moyenne de 10 fois le temps nécessaire à l'analyse de nombreux composés biochimiques.

On est passé à des durées de quelques minutes alors qu'auparavant une chromatographie requérait quelques dizaines de minutes. Le Gain de temps et haut pouvoir de résolution sont les maîtres mots de cette technologie (Audigié C L .et *al.*, 1995).

IV .3.3.4. Description

- ✚ L'HPLC n'est pas un principe en soi, chaque type de support permet de réaliser une chromatographie dont le principe est déjà connu et appliqué en pression ambiante: adsorption, exclusion- diffusion, ionique, phase inversée, etc.
- ✚ L'HPLC se distingue des systèmes classiques par une augmentation de la vitesse d'échange entre phase solide et liquide et l'accroissement du nombre des plateaux théoriques
- ✚ L'HPLC est caractérisé par un fluide appelé phase mobile parcourt un tube appelé colonne. Cette colonne peut contenir des "granulés" poreux(colonne remplie) ou être recouverte à l'intérieur d'un film mince (colonne capillaire). Dans les deux cas, la colonne est appelée phase stationnaire. A l'instant initial, le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il se dilue dans la phase mobile qui l'entraîne à travers la colonne.
- ✚ Si la phase stationnaire a été bien choisie, les constituants du mélange, appelés généralement les solutés, sont inégalement retenus lors de la traversée de la colonne. De ce phénomène appelé rétention il résulte que les constituants du mélange injecté se déplacent tous moins vite que la phase mobile et que leurs vitesses de déplacement sont différentes. Ils sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres et donc séparés.
- ✚ Un détecteur placé à la sortie de la colonne couplé à un enregistreur permet d'obtenir un tracé appelé chromatogramme. En effet, il dirige sur un enregistreur un signal constant appelé ligne de base en présence du fluide porteur seul ; au passage de chaque soluté séparé il conduit dans le temps à l'enregistrement d'un pic.
- ✚ Dans des conditions chromatographiques données, le "temps de rétention" (temps au bout duquel un composé est élué de la colonne et détecté), caractérise qualitativement une substance. L'amplitude de ces pics, ou encore l'aire limitée par ces pics et la prolongation de la ligne de base permet de mesurer la concentration de chaque soluté dans le mélange injecté.
- ✚ Comme pour la chromatographie en phase gazeuse, la chromatographie liquide haute pression s'effectue avec un appareil commercial, dont les principales composantes sont

vendues en modules séparés, ou incorporées dans la chromatographie, (Audigié C L .et al., 1995). tel qu'illustré dans le schéma:

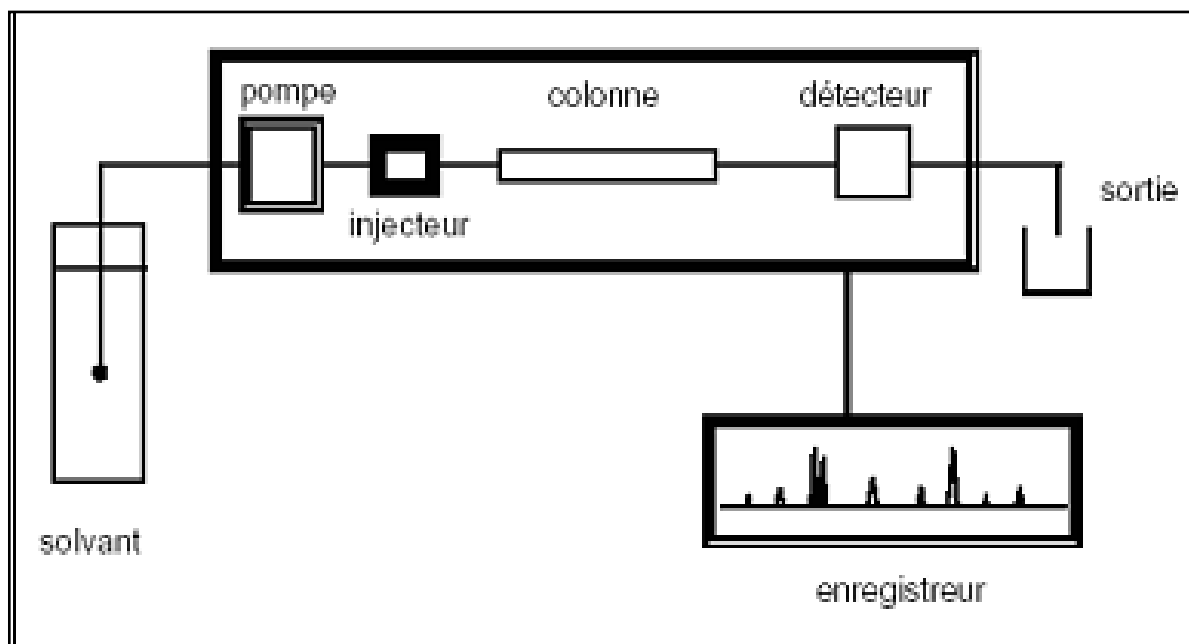


Figure n° 13: chromatographe HPLC (Salghi R., 2004).

IV .3.3.5. Les domaines d'application

La chromatographie liquide haute performance a pour objet plus une analyse quantitative que qualitative car il paraît difficilement envisageable de balayer tout l'intervalle de longueur d'onde accessible pour détecter n'importe quel produit contenu dans la solution étudiée.

- L'HPLC se développe de plus en plus pour des très nombreuses molécules (hormones, vitamines, médicaments,...).C'est un appareil de base indispensable dans tous les laboratoires de recherches .
- L'HPLC est aussi employé en cosmétologie elle permet l'analyse soit des substances thermiquement instable soit des substances peu volatiles, soit encore des substances ionisées .
- Les molécules d'intérêts biologiques comme les vitamines, les sucres et les acides aminés peuvent être analysées directement sans passer par la formation de dérivés, et la séparation des protéines et de polymères synthétiques peut être réalisée même si leur masse est élevée (Anonyme 3., 2006).
- Composés polaires, thermolabiles... (Herbette G .et al., 2002,Cité par Zeghilet N., 2009) :
 - service de toxicologie : analyse de drug (barbituriques, benzodiazépines, anti-inflammatoires, anticonvulsifs, analgésiques...)
 - service environnement : analyse de pollutions (déversement...)

- service agro-alimentaire : analyse des résidus des antibiotiques, pesticides ...
- service des explosifs : analyse de composés explosifs.
- service des stupéfiants : analyse de drogues (cannabis, héroïne...).

IV .3.3.6. L'appareillage

Un chromatographe liquide haute pression comporte une ou plusieurs pompes qui propulse l'éluant dans une colonne analytique. L'injection de l'échantillon à analyser est pratiquée en introduisant un faible volume de produit (quelques µl) dans l'éluant sous pression, après leur séparation, les différents constituants de l'échantillon sont détectés en sortie de colonne. Un logiciel assure l'acquisition et le traitement des données (Audigé C L .et al., 1995). Le tableau nous indique les principaux solvants utilisés en HPLC ainsi que les phénomènes mise en jeu.

Tableau n° 13: Les principaux solvants utilisés en HPLC.

Phénomène	Solvants
Adsorption	Hexane, méthanol, acétonitrile, dichlorométhane, chloroforme
Partition	Méthanol-eau, acétonitrile-eau
Echange d'ions	Solution tampon (pH contrôlé)
Exclusion	Tétrahydrofurane, toluène

(Zeghilet N., 2009)

Dans tout appareillage HPLC on retrouvera toujours les éléments de base suivants :
Ces modules sont illustrés sur (figure 14).

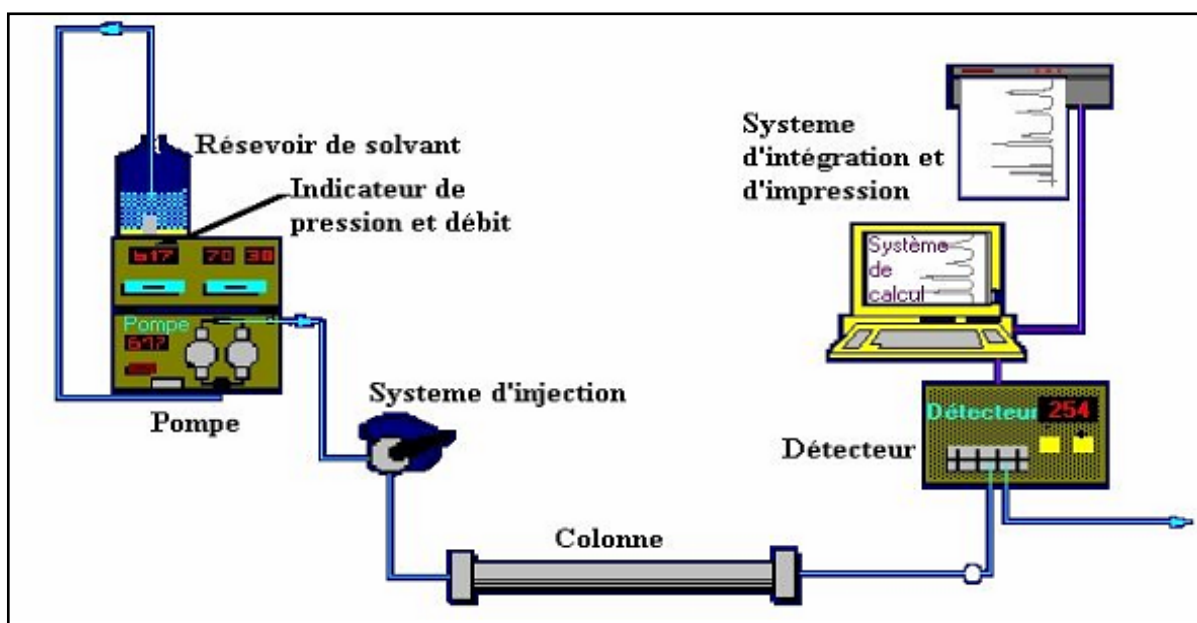


Figure n° 14: instrumentation de l'HPLC (Boultif L., 2009).

IV .3.3.6.1 Un réservoir de solvant (éluant)

Il contient la phase mobile en quantité suffisante. La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants qui doit être de pureté analytique et filtré pour éliminer les particules solides qui risqueraient d'endommager la pompe ou de bloquer la colonne.

Le filtre, en acier inoxydable d'une porosité de 2 μm , est placé à l'extrémité dans le réservoir à solvant (Salghi R., 2004).

Plusieurs flacons d'éluant (solvants de polarités différentes) sont disponibles pour pouvoir réaliser des gradients d'éluant (mélange de plusieurs solvants à des concentrations variables) à l'aide de la pompe doseuse (Le Bihan J Y .et *al.*, 2008).

IV .3.3.6.2 La pompe

Elle est munie d'un système de gradient permettant d'effectuer une programmation de la nature du solvant (figure). Elle permet de travailler:

- en mode isocratique, c'est-à-dire avec 100% d'un même éluant tout au long de l'analyse, on utilise une pompe simple, réglable en pression, ou en débit.
- en mode gradient (de polarité, de force ionique, ou de PH), c'est-à-dire avec une variation de la concentration des constituants du mélange d'éluant.

Les pompes actuelles ont un débit variable de quelques μl à plusieurs ml/min (Audigié C L .et *al.*, 1995 , Salghi R., 2004).

IV .3.3.6.3 Vanne d'injection

C'est un injecteur à boucles d'échantillonnage. Il existe des boucles de différents volumes : 10, 20, 50 μl . Le choix du volume de la boucle se fait en fonction de la taille de la colonne et de la concentration supposée des produits à analyser. Le système de la boucle d'injection permet d'avoir un volume injecté constant, sans variation importante de la pression, dans le circuit allant des pompes vers l'entrée de la colonne ; ce qui est important pour l'analyse quantitative (Le Bihan J Y .et *al.*, 2008), (figure16) montre le mécanisme de fonctionnement des boucles d'injection.

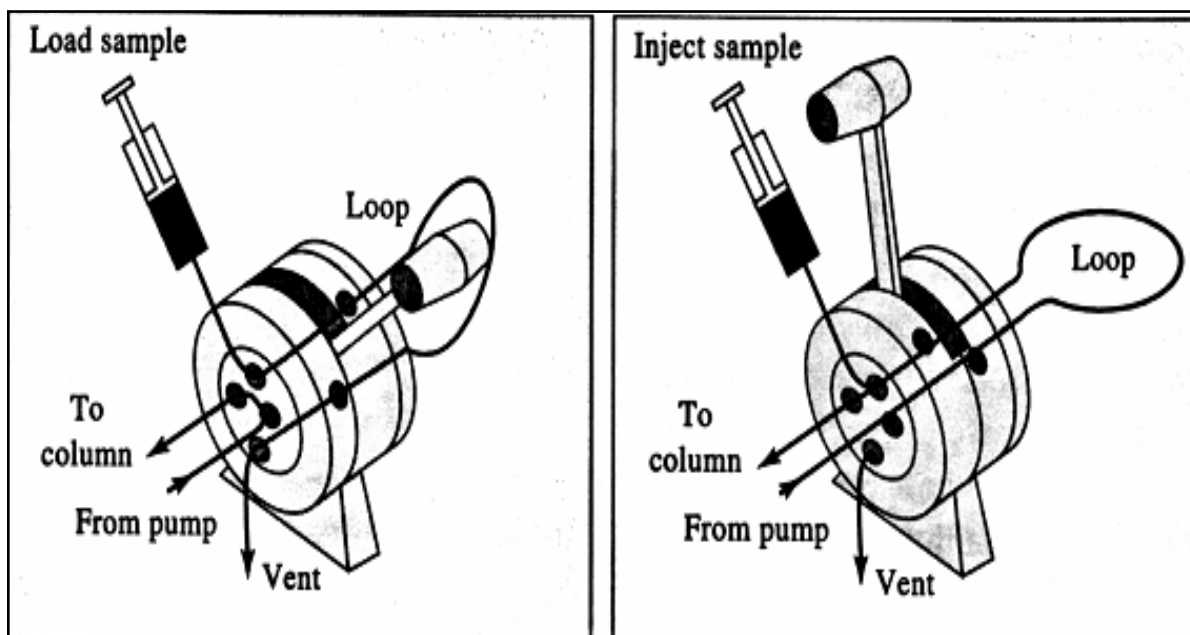


Figure n° 15: Injecteur à boucle à gauche, le remplissage de la boucle à droite, l'injection dans la colonne (Chebira B., 2009).

IV .3.3.6.4 La colonne

La colonne est la partie la plus importante du système, puisque c'est à cet endroit que se fait la séparation des composés. Les colonnes sont en acier inoxydable, de longueur variant de 5 à 25 cm avec un diamètre interne de 4 à 4,6 mm. Ces colonnes sont remplies de la phase stationnaire, dont le diamètre des particules varie de 3 à 10 μ m. Des compagnies se spécialisent dans la vente de colonnes pour HPLC.

Pour éviter l'obstruction et la détérioration des colonnes par les contaminants, on place habituellement une colonne de garde plus petite et moins dispendieuse au sommet de la colonne principale. Les colonnes de garde doivent être changées régulièrement (Salghi R., 2004).

IV .3.3.6.5.1 La phase stationnaire(fixe)

Il existe deux types de la phase stationnaire :

✓ La phase normale

La phase normale est constituée de gel de silice. Ce matériau est très polaire. Il faut donc utiliser un éluant apolaire. Ainsi lors de l'injection d'une solution, les produits polaires sont retenus dans la colonne, contrairement aux produits apolaire qui sortent en tête.

L'inconvénient d'une telle phase, c'est une détérioration rapide au cours du temps du gel de silice, ce qui entraîne un manque de reproductibilité des séparations .

✓ La phase inverse

La phase inverse est majoritairement composée de silice greffée par des chaînes linéaires de 8 ou 18 atomes de carbones (C8 et C18). Cette phase est apolaire et nécessite donc un éluant polaire (ACN, Me OH, H₂O). Dans ce cas, ce sont les composés polaires qui seront élués en premier. Contrairement à une phase normale, il n'y a pas d'évolution de la phase stationnaire au cours du temps, et la qualité de la séparation est donc maintenue constante (Zeghilet N., 2009).

IV .3.3.6.5.2. La phase mobile

L'interaction plus ou moins forte entre la phase mobile et la phase stationnaire normale ou à polarité inversée se répercute sur les temps de rétention des solutés.

La polarité de la phase stationnaire permet de distinguer deux situations de principe :

- si la phase stationnaire est polaire, on utilisera une phase mobile peu polaire la chromatographie est dite en phase normale ;
- si la phase stationnaire est très peu polaire, on choisira une phase mobile polaire (le plus souvent des mélanges de méthanol ou d'acétonitrile avec de l'eau), c'est la chromatographie en phase inverse. En modifiant la polarité de la phase mobile, on agit sur les facteurs de rétention k des composés.

Les silices greffées conduisent en général à une perte importante de polarité. avec une phase greffée, l'ordre d'élution est opposé à celui auquel on est habitué avec les phases normales. Ainsi avec un éluant polaire, un composé polaire migre plus vite qu'un composé apolaire. Dans ces conditions les hydrocarbures sont fortement retenus. On réalise des gradients d'élution en diminuant au cours de la séparation la polarité de l'éluant (ex : mélange eau/acétonitrile dont la concentration en acétonitrile va en croissant au cours de l'élution).

On peut, en mélangeant plusieurs solvants, ajuster le pouvoir d'élution de la phase mobile (Zeghilet N., 2009).

IV .3.3.6.6 Détecteurs

Le détecteur est placé à la sortie de la colonne chromatographique et doit être capable de détecter les composés qui sortent de la colonne. Le signal est converti en impulsion électrique qui est transmise à l'enregistreur. Comme en chromatographie en phase gazeuse,

Les détecteurs utilisés en chromatographie liquide haute pression doivent posséder certaines qualités, dont les principales sont:

- une grande sensibilité
- une réponse linéaire sur une gamme de concentration élevée- une capacité à détecter le plus de produits possible (Salghi R.,2004).
- Les principaux détecteurs utilisés en HPLC sont :

✓ **Détecteur UV- visible**

Il mesure l'absorption de la lumière par le produit à la sortie de la colonne (Audigié C L .et al., 1995). Et opère à longueur d'onde constante, celle-ci ayant été fixée par l'opérateur.

La lampe deutérium est utilisée pour des longueurs d'ondes variant de 190-350 nm et la lampe à vapeur de mercure est utilisée à la longueur d'onde non variable de 254 nm.

Pour que ce type de détecteur soit utilisable, il faut que:

- ❖ le produit à détecter absorbe la lumière à une longueur d'onde accessible à l'appareil, et que son coefficient d'absorption soit suffisamment grand.
- ❖ la phase mobile n'absorbe pas la lumière à la longueur d'onde choisie par l'opérateur.

(figure16), représente un détecteur UV (Bouchonnet S .et Libong D., 2007).

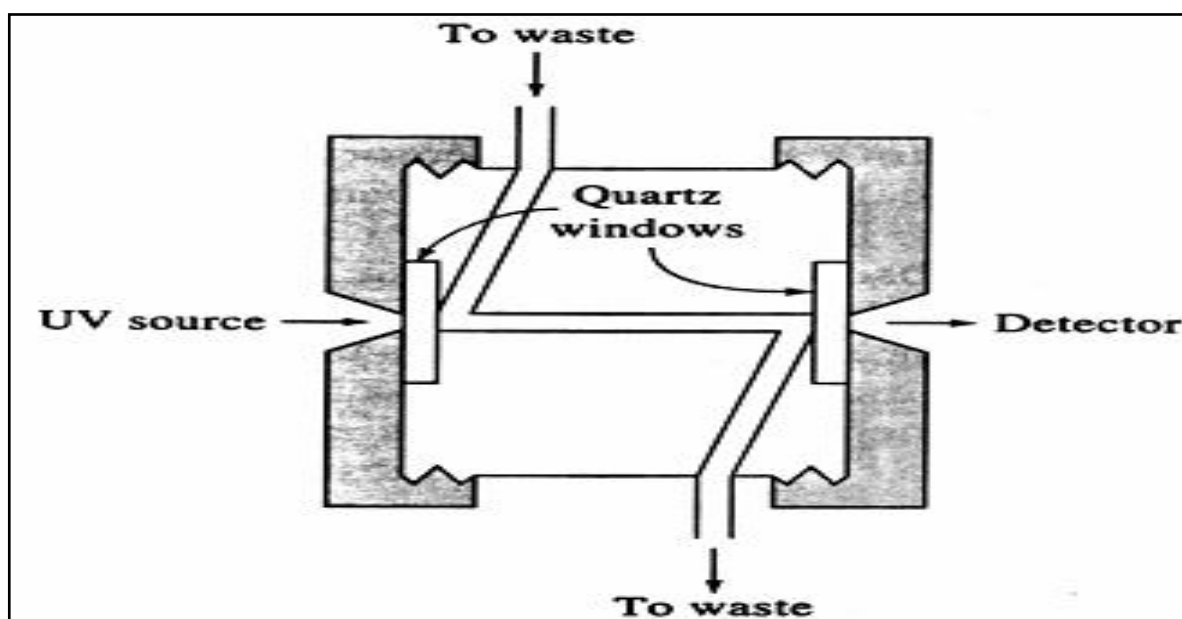


Figure n°16: le détecteur UV (Bouchonnet S .et Libong D., 2007).

✓ **Détecteur à indice de réfraction**

Le détecteur mesure l'indice de réfraction du liquide sortant de la colonne. C'est un détecteur universel puisque l'indice de réfraction de l'éluant est modifié lorsqu'un composé, quel qu'il soit, sort de la colonne. Il donne une réponse similaire pour les composés de la même famille (ex: sucres), mais son principal inconvénient est sa faible sensibilité (Salghi R., 2004). Ce détecteur exclut les variations de la composition de la phase mobile ; il n'est donc possible de travailler qu'en mode isocratique avec ce détecteur.

Les données sont collectées par l'intermédiaire soit d'un intégrateur ou d'une station d'acquisition (Babic S .et *al.*, 2004).

IV .3.3.6.7 Enregistreurs

Les enregistreurs sont les mêmes que ceux utilisés en chromatographie en phase gazeuse. Les logiciels d'application, comme le Millennium, sont également utilisés en HPLC (Salghi R., 2004).

IV.3.3.2 Méthode spectrométrique (spectrométrie de masse (SM))

IV.3.3.2.1 Définition

La spectrométrie de masse est une méthode physico-chimique permettant d'identifier un principe toxique. C'est une méthode de mesure des rapports masse-sur-charge (m/z) de molécules individuelles et ionisées et de leurs produits de fragmentations.

Pour cela, le spectromètre de masse doit assurer les opérations suivantes:

- volatiliser: Séparer les molécules les unes des autres : on passe de l'état de matière condensée à un état gazeux
- ioniser: Transformer les molécules en ions, car un spectromètre de masse fonctionne grâce à des champs électriques.
- mesurer les rapports m/z : La masse moléculaire est calculée à partir du rapport masse (m)/nb de charges (z), (Anonyme 2.,2005).

IV.3.3.2.2. Principe de la SM

Le spectrographe de masse consiste à ioniser par des électrons une molécule A. Celle ci va donc donner une entité A^+ ayant perdu un électron. A^+ va pouvoir se scinder en plusieurs groupements (chargé + ou non) plus petits, ou bien se réarranger. On accélère alors ces particules par un champ électrique, puis elles sont déviées par un champ magnétique. Un spectrographe de masse dans lequel on ne modifie aucun paramètre ne va pouvoir être étalonné. Il sera étalonné en masses molaires, puisque e est constant.

Le nombre de molécules aura une incidence sur la plaque sensible du détecteur : Plus nombreux sont les ions d'un type donné, plus intense sera la tache obtenue. Actuellement, les détecteurs informatisés permettent d'obtenir directement un spectre étalé (Zeghilet N.,2009). Le principe de la SM (figure17).

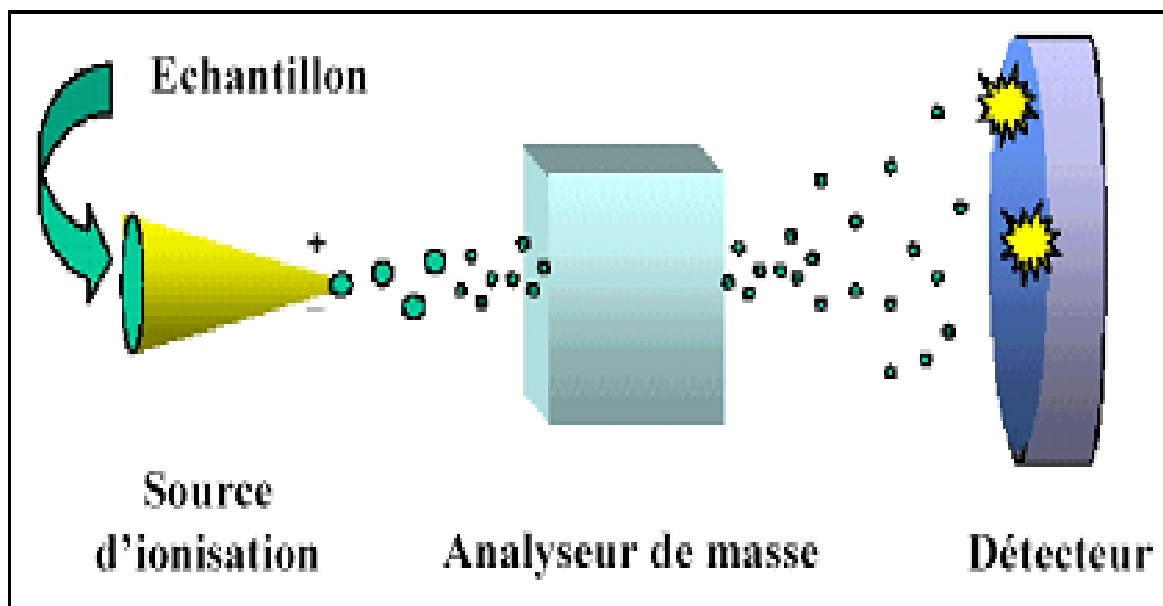


Figure n°17: Principe de la spectrométrie de masse (Laurence C., 2003).

IV.3.3.3. La Spectrométrie DEUV

Le spectre compare un faisceau monochromatique de longueur d'onde donnée λ passant au travers de la solution à étudier, et un autre faisceau de même longueur d'onde et de même intensité initiale passant au travers d'une cuve ne contenant que le solvant utilisé. Soit I l'intensité du premier et I_0 celle du second. On définit la densité optique de la solution à étudier par : $D = \log (I_0/I)$, qui est toujours positif. La densité optique d est proportionnelle à la longueur de la cuve et à la concentration molaire volumique du composé. Le coefficient de proportionnalité s'appelle le coefficient d'extinction molaire e : $D = e \cdot l(\text{cm}) \cdot c(\text{g/l})$ e varie beaucoup. Au maximum d'absorption de chacun des corps suivant (λ_{max}) (Anonyme 3., 2006).

IV.3.4. Phase 4: La quantification de la teneur en résidus

En principe, la méthode d'analyse de confirmation et/ou d'identification, basée sur la chromatographie liquide, peut être appliquée de manière quantitative (calibration au moyen d'un standard interne ou au moyen d'une courbe standard à différentes dilutions).

Le choix des antibiotiques analysés est basé sur la disponibilité sur le marché de dosages immuno- chimiques ou d'autres tests biochimiques. Quant aux analyses de confirmation, elles sont réalisées par des méthodes d'analyses physico-chimiques.

Les substances antibactériennes les plus souvent rencontrées dans les tissus et produits animaux appartiennent à l'une des sept familles d'agents antibactériens : les b-lactames, (fluoro)quinolones, macrolides, phénicolés, tétracyclines, aminoglycosides et les Sulfonamides (Maghuin-rogister G .et al., 2001).

donc on peut résumer la stratégie analytiques dans(figure18):

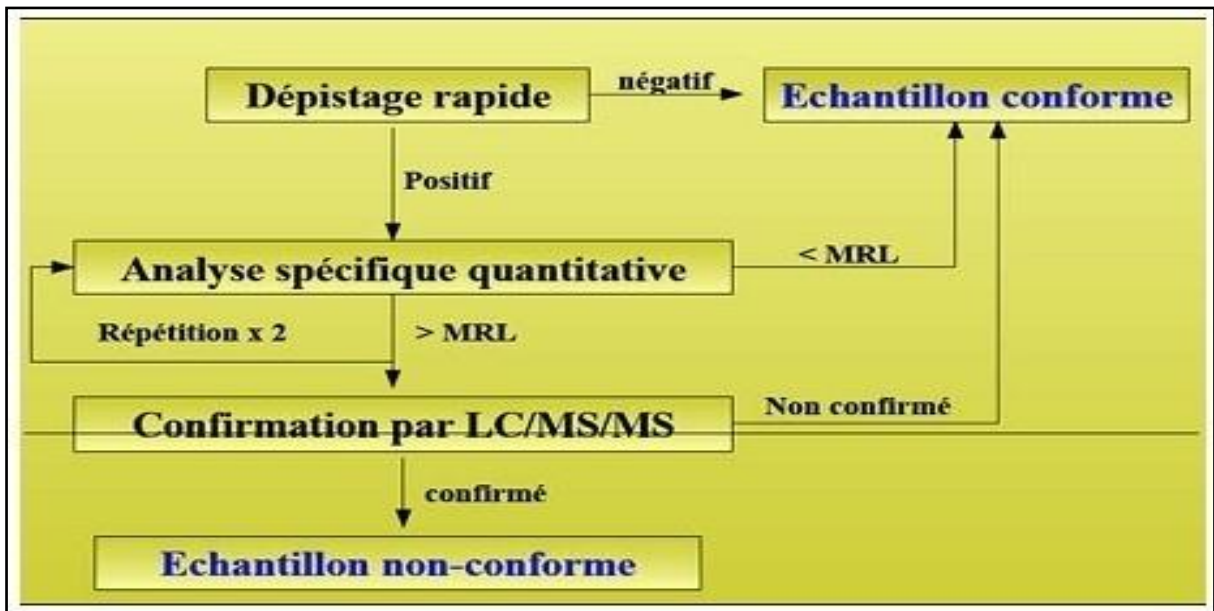


Figure n°18: Stratégie analytiques (Hadeif L., 2009).

Conclusion générale

Lors du traitement antibactérien appliqué au niveau des élevages des volailles, certains antibiotiques se concentrent au niveau de la viande ce qui engendre une accumulation des résidus de ces antibiotiques qui peuvent avoir des conséquences néfastes sur les qualités organoleptiques et sanitaires de la viande.

Il ressort de notre étude qu'il est indispensable de prendre des mesures strictes en matière de production de viande blanche et de contrôle pour éviter la présence de résidus des ATB .Nous pensons que quelques mesures essentielles doivent être prises en urgence et qui s'adressent aux pouvoirs publics, aux vétérinaires, aux éleveurs et aux consommateurs:

Les pouvoirs publics doivent

- Exercer leur rôle régalien en réglementant la qualité et la sécurité sanitaire des denrées alimentaires d'origine animale Des normes en matière de résidus doivent être élaborées par des structures qualifiées ;
- Surveiller davantage des filières d'approvisionnement en médicaments vétérinaires
- Réglementer les conditions d'utilisation des antibiotiques comme en Europe où celle-ci n'est autorisée que sous certaines conditions pour les animaux destinés à la consommation ;
- Mettre en place un programme national de contrôle permanent de la qualité des viandes .
- Organiser des séminaires sur les dangers de l'utilisation anarchique des substances à activité antimicrobienne sur la santé publique.

Les éleveurs devraient

- être sensibilisés sur les dangers que présentent les résidus d'antibiotiques afin d'être amenés à ne plus les utiliser abusivement et à en laisser la responsabilité aux vétérinaires ;
- Respecter les délais d'attente prescrits et tenir des fiches d'abattage facilitant le contrôle.
- Respecter les règles de bonnes pratiques d'élevage .

Les vétérinaires, prescripteurs des médicaments

Il convient de recommander à leur endroit une plus grande rigueur à la prescription des médicaments en sensibilisant à la base les éleveurs sur les règles à respecter pour une utilisation raisonnée des antibiotiques.

Les consommateurs doivent être informés et refuser les pratiques susceptibles de nuire à leur santé.

Résumé

Les résidus des antibiotiques dans les viandes blanches sont les traces de traitements antimicrobiens antécédents dont le délai d'attente, la dose, la durée de traitement ou les modalités d'injection n'ont pas été respectées. La présence des antibiotiques dans la viande et de leurs résidus ou leurs produits de dégradation peuvent entraîner des risques de différentes natures pour les consommateurs :

- des modifications de la flore intestinale.
- des effets toxiques ou allergènes.
- la sélection des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques.

De ce fait, il est indispensable de recourir à des méthodes fiables pour la détection et la quantification de ces résidus afin de protéger la santé du consommateur algériens.

Il y a actuellement peu d'informations sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes proposées à la vente. Cette absence de connaissances nécessite des recherches dont l'objectif est d'établir une première base d'informations et de participer à la sensibilisation des professionnels et des pouvoirs publics sur ce problème encore méconnu.

Mots clés:-Viande blanche- Résidus des antibiotiques- Méthodes de détection- HPLC.

ملخص

بقايا المضادات الحيوية في اللحوم البيضاء ناتجة عن العلاج المضاد للميكروبات السابقة التي منها مدة الانتظار، الجرعة، مدة العلاج أو طريقة الحقن الغير محترمة .
وجود المضادات الحيوية وبقاياها في اللحم أو نواتج هدمها تؤدي إلى مخاطر ذات طبيعة مختلفة للمستهلك :
-تغيرات على مستوى البكتيريا المعوية.
-تأثيرات سامة أو إحداث حساسية.
-تنتج مقاوميه للمضادات الحيوية من طرف البكتيريا الممرضة.

ولذلك وجب اللجوء لطرق مختلفة لكشف وتكميم هذه البقايا، وذلك لحماية صحة المستهلك الجزائري.
في وقتنا الحالي يوجد الكثير من المعلومات المتعلقة بوجود بقايا المضادات الحيوية في اللحوم المعروضة للبيع , غياب هذه المعلومات تطلب وجود بحوث الهدف منها وضع معلومات قاعدية والمشاركة في التحسيس الوظيفي والسلطات المعنية لهذا المشكل.

الكلمات المفتاحية: - اللحوم البيضاء- بقايا المضادات الحيوية - الكشف عن الأساليب- جهاز التحليل الثوروماتوغرافي ذو الضغط العالي.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1-Abidi K.,(2004). Résidus d'antibiotiques dans le lait de boisson .Thèse Médecine vétérinaire. Tunisie : École nationale de médecine vétérinaire de Sidi Thabet , 6-23 P.
- 2-Achouri A H .,(2008). La musculature du poulet de chair (Etude de la morphométrie et de la composition chimique des muscles pectoraux et de certains muscles de la cuisse).thèse magister:. Anatomie Vétérinaire. Batna: Universitéel-hadjlakhdar , 109P.
- 3-AFSSA.,(2006). Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, 2006. 53 P.
- 4-Alamedji R B , Akakpo.J , TekoAgbo A , Châtaigner B, Stevens A et Gadin B., (2008) . Contrôle des résidus : exemple des antibiotiques dans les aliments au Sénégal [Communication]. Conférence de l'OIE sur les médicaments vétérinaires en Afrique : Harmonisation et amélioration de l'enregistrement de la distribution et du contrôle qualité. Dakar, 25 au 27 mars 2008 , 11 P.
- 5-Alleman F , Bordas , Caffin J P, Daval S, Diot C , Douaire M , Fraslin J M,Lagarrigue S , Leclercq B ., (1999). L'engraissement chez le poulet : aspects métaboliques et génétiques. INRA Prod. Anim. Vol .(12) : 257-264.
- 6-Anonyme 01 .,(2003).relatif au temps d'attente et aux limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale au Maroc. Journal de Monaco, Bulletin principal de la principauté, n° 7951 du 21/03/2003. Maroc. p25.
- 7-Anonyme 02 .,(2005). Cours spectrométrie de masse 2005. Laboratoire de Spectrométrie de Masse BioOrganique UMR 7512 (Dir: Alain Van Dorsselaer).CNRS-Université Louis Pasteur Strasbourg . 4-33 p. [en ligne] (page consultée le 26/04/2014).
http://www-esbs.u-strasbg.fr/notesdecours/.../Intro_SS.pdf.
- 8-Anonyme 03 ., (2006).Cours de chimie organique, minérale et structurale.[en ligne](page consultée le 04/11/2013). <http://www.ac-nancy-...ber/Default.htm>.
- 9-Audigié CL, Dupont G , Zonszain F.,(1995).Principes des méthode d'analyse biochimiques. tome 1.Doin Editeurs ,Paris . 220 p.

Références bibliographique

10-Ayachi H.,(2001).analyse de l'interaction ribonucléase-kanamycine par modélisation moléculaire. thèse magister.Tlemcen :UniversitéAbou-Baker belkaid,97p.

11-Babić S, Mutavdžić D, As perger D, Horvat A J M , KastelanMacan M .,(2004). Solid phase extraction and HPLC determination of veterinary pharmaceuticals in waste water. Laboratory of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical Engineering and Technology: University of Zagreb.Croatia . 4 p.

12-Belhadj MT., (2008) . Contribution a l'étude de la qualité bactériologique des viandes blanches commercialisées dans la Wilaya de Bordj Bou Arreridj . Thèse magistère .

El -Harrach : école nationale vétérinaire. 7 p.

13-Benaissa A .,(2011). Etude de la qualité microbiologique des viandes cameline et ovine conservées selon différents modes. Thèse magister en Biologie :Microbiologie Appliquée. Ouargla: Université kasdiMerbah,125P.

14-Ben Youssef S.,(2013). Résidus d'antibiotiques dans les DAOA et Résistances bactériennes. Ed. Société Scientifique Tunisienne de Médecine Vétérinaire Aviaire Hammamet ,Tunisie . 50 P.

15-Biopharm R.,(2011). Test de detection des residus d'antibiotiques dans le muscle. Thèserapport de synthèse de l'étude de validation du premirtest .Version , 3 du 16 février 2011,42P.

16- Blais Ch.,(2011) . Structure et tendreté de la viande. Département de nutrition:Université de Montréal . 5P.

17-Bornert G.,(2000) . Importance des bactéries psychrotrophes en hygiène des denrées alimentaires. Rev. Méd.Vét, 2000.Vol. 151(11) : 1003-1010.

18-Bouchard E .,(2004) . Préparations pharmaceutiques pour la décontamination digestive : dosage et étude de stabilité des principes actifs des gélules administrées chez les adultes neutropéniques . Thèse magister : pharmacie industriel et biomédicale. Lyon : Université Claude Bernard , 50 P.

19-Bouchonnet S .et Libong D .,(2007). Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. Département de Chimie, Laboratoire des Mécanismes Réactionnels, Ecole Polytechnique 91128 PALAISEAU Cedex. 2-24P.[en ligne](page consultée le 06/03/2014).<http://www.dcmr.polytechnique.fr/spip/IMG/pdf/couplage.pdf>.

Références bibliographique

- 20- Boukhalfa L .,(2006). L'aviculture en Algérie. Journées sur la grippe aviaire. Batna les 15-16/03/2006.
- 21-Boultif L .,(2009). Optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans le lait par chromatographie liquide haute performance (HPLC).Thèse magister en médecine vétérinaire : surveillance de la chaîne alimentaire de la filière viande . Constantine : Université Mentouri , EL Khroub , 196 P .
- 22-Brouillet P.,(2002). Résidus de médicaments dans le lait et tests de détection .Revue Bulletin des GVT n°15, Mai -Juin 2002 . 25-41 p.
- 23-Burgat Sacaze V.,(1981). Risque d'accidents allergiques dus aux résidus . Rev .Méd .Vét , 1981.Vol .157(2) : 187-190 .
- 24-Centre d'Information de Viande (CIV),.(2004). les qualités organoleptiques de viande .Paris. 8-14 P.
- 25-Centre d'information de Viande (CIV) .,(2008) . Résidus et contaminants chimiques des viandes Les connaître et les maîtriser. Paris . 4 -7 P.
- 26-Châtaigner B ., (2004). Etude de la qualité sanitaire des viandes bovines et ovines à Dakar (Sénégal). Contamination par des résidus d'antibiotiques .Thèse de doctorat vétérinaire . Toulouse , 103 P.
- 27-Châtaigner B .et Stevens A.,(2005). Investigation sur la présence des résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées à Dakar. Rapport projet PACEPA. Ministère de l'Elevage-Service de coopération et d'action culturelle-Institut Pasteur , 66p.
- 28-Chatellet MC ., (2007). Modalités d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin: enquête en Anjou. Thèse de doctorat vétérinaire . France : École nationale vétérinaire d'Alfort , 90 p .
- 29-Chebira B.,(2009). optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans le miel par chromatographie liquide haute performance (HPLC). Thèse magister en médecine vétérinaire : surveillance de la chaîne alimentaire de la filière viande . Constantine : Université Mentouri , EL Khroub , 91 P .
- 30- Chéret R .,(2005). Effet des hautes pressions sur les indicateurs de maturation de la viande et d'altération du muscle de poisson . Thèse de doctorat : école doctorale mécanique, thermique et génie civil de Nantes. 34 – 41 p.

Références bibliographique

- 31-Chopra I O , Miller K .,(2003)."The role of mutators in the emergence of antibiotic resistant bacteria" . Drug Resist Updat .vol. 6(3): 137-145.
- 32- Clinquart A, Fabry .et Casteels M., (1999). La viande. Chapitre la viande et les produits de viande dans notre alimentation . 141-161 p.
- 33- Coibion L .,(2008). Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine adaptation à la demande du consommateur. Thèse de doctorat vétérinaire: Université de Toulouse, 48 P.
- 34-Combes S., (2004). Valeur nutritionnelle de la viande de lapin. INRA Prod. Anim., 17 (5), 373-383p.
- 35-Corpet D E .et Brugere H B .,(1995) . Résidus antibiotiques dans les aliments d'origine animale: conséquences microbiologiques , évaluation de la dose sans effet chez l'homme. Rev. Méd. Vét , 1995 .Vol.146 (2) : 73-82 .
36. Craplet C., (1966).La viande de bovins .tome I .Ed Vigot frère, Paris . 7- 486 p.
- 37-Crawford L M ., (1985). L'impact des résidus sur les denrées alimentaires d'origine animale et sur la santé humaine .Rev. sci. tech. Off. int. Epiz , 1985. vol. 18 (4) :687-704 .
- 38-Danhaive P., (1986). Détection d'antibiotiques de type B-lactames dans les viandes par la méthode Penzym®. Annales de médecine vétérinaire (périodique mensuel), ISSN 0003 – 4118. (JANVIER), 1986 . Vol.130 (1): 61-63. Cité par Zeghilet N.,(2009).
- Zeghilet N., (2009). optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans la viande blanche par chromatographie liquide haute performance (HPLC).Thèse magister en médecine vétérinaire : surveillance de la chaîne alimentaire de la filière viande . Constantine : Université Mentouri , EL Khroub , 181 P .
- 39-Drieux H , Ferrando R , Jacquot R ., (1962) . Caractéristiques alimentaires de la viande de boucherie . Vigot frères éditeurs, Paris VI. 9 p.
- 40-EL Bahri L .,(2007) .Antibiothérapie et residus .Journée Afrimed Sousse ,12 Mai 2007.Vol. 74 :49 .
- 41-Eloit M .,(2004). Plan de contrôle des résidus d'antibiotiques dans les viandes d'animaux de boucherie. de volailles, de gibiers, de lapins et de poissons d'élevage . p 2.

Références bibliographique

42-EL Rammouz R .,(2005). Etude des changements biochimiques Post mortem dans le muscle des volailles – contribution Au déterminisme de l’amplitude de la diminution du PH. Thèse doctorat : Sciences Agronomiques. Toulouse,264P.

43-Fabre JM ,Moretain J P .et Berthelot X .,(2002). Évolution de la méthode interprofessionnelle de recherche des résidus d’antibiotiques dans le lait Revue : Bulletin des GVT, n°15.Avril-Mai-Juin 2002 . 26-28 p.

44-Fabre JM , Petit C .et Bosquet G. (2006). Comprendre et prévenir Les risques de résidus d’antibiotiques dans les denrées alimentaires d’origine animale. Ed : Lavoisier. 4 p.

45-Fabre pradal M .et Chenzi D., (1989). Produire de la viande bovine aujourd’hui,2 eme. Ed. Tec et Doc Technologie et documentation . Lavoisier. 66 p.

46-Feliachi K .,(2003). Rapport National sur les Ressources Génétiques Animales. Commission nationale AnGR , Algérie.18-19P.

47-Ferrah A ., (2005). Aides publiques et développement de l’élevage en Algérie contribution à une analyse d’impact (2000-2005). 7-8P.

48-Fiscus Mougel F.,(1993). Les résidus d’antibiotiques à usage vétérinaire dans le lait et la viande. Thèse de doctorat en Pharmacie . Lyon : Université Claude Bernard. P 84 .

49-Fournaud J.,(1988). Conservation des viandes in L’hygiène et sécurité alimentaire dans la filière vinde. Apria, Paris. 43-71 p.

50- Fournier V., (2003) .La résistance bactérienne est devenue un sujet d’actualité . Tous droits réservés PISTES ,Université Laval. Vol.31 : 14- 16.

51-Jaussaud P.,(2002). Cours de pharmacologie de première année de deuxième cycle
Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 2002.

52-Jenster G , Van der korput J A , Trapman J, Brinkmana O., (1992). Functional domains of the human androgen receptor. J. Steroid. Biochem. Mol. Biol .Vol. 41: 671-675. Ministère de la Santé.

53-Jeon M , Kim J , Paeng K J, Park SW .et Paeng IR ., (2008). Biotin-avidin mediated competitive enzyme-linked immune sorbent assay to detect residues of tetracyclines in milk . Microchemical Journal, 2008.Vol . 88 (1) :26-31.

Références bibliographique

54-Hadef L.,(2009). optimisation des paramètres de détection et de quantification par chromatographie liquide haute performance (HPLC)résidus d'antibiotiques dans la viande. Thèse magister en médecine vétérinaire : surveillance de la chaîne alimentaire de la filière viande . Constantine : Université Mentouri , EL Khroub , 101 P.

55-Haffas M.,(2009).synthèse et application de phosphinoyl des pénicillines;et étude de leur activité biologique .thèse magister . Ouargla : universitékasdimerbah . 87 p.

56-Haguenoer JM ., (2008). Les résidus de médicaments présententils un risque pour la santé publique.do pharmaceuticalwaste and drugresidue pose a risk to public health. Santé publique ,2010. Vol. 22(3) : 325-342.

57-Henry D .etColl .,(1992). Alimentation et nutrition humaines. ESF. Paris.

58-Herbette G , Rosas R, Faure R., (2002). Présentation de la HPLC, du couplage HPLC-RMN et de la cryosonde. Application au laboratoire de la police scientifique de Marseille. Centre régional de résonance magnétique nucléaire de Marseille. Facultés des sciences théchniques de Saint Jérôme-AIX -Marsseille III. 2-13 p.Zeghilet N., (2009). optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans la viande blanche par chromatographie liquide haute performance (HPLC).Thèse magister en médecine vétérinaire : surveillance de la chaîne alimentaire de la filière viande . Constantine : Université Mentouri , EL Khroub , 181 P .

59-Houari Boumediene A.,(2009). Enquête sur la situation de la filièreviande rouge à

El-Bayadh. Memoire de stage: alimentation, Nutrition et sante, filiere sciences alimentaires et nutrition. Constantine: UniversiteMentourI ,59P.

60-Gaudin V, Fabre JM ,Rault A.,(2006).Validation AFNOR des méthodes alternatives d'analyse – Application à la détection des résidus d'antibiotiques et autres molécules à effet antibactérien dans les produits agroalimentaires. Rapport d'étude préliminaire pour la validation AFNOR du Premi Test®. p 5-9 .[en ligne](page consultée le 14/12/2013).

<http://www.afnor-validation.org/rapports-synthese/dsm/synt%20dsm%2028-1%2006-06.pdf>.

61-Guillemain N .,(2010) .marquette protéique de la tendreté de la viande bovine .Thèse doctorat: physiologie et Génétique Moléculaires . paris: Univ Blaise pascal . 189 p.

Références bibliographique

62- Guillemot D ., (2006) . Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine . Document AFSSA (Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments) . 10 – 214 p .[en ligne](page consultée le 17/11/2013).

<http://www.anses.fr/Documents/SANT-Ra-ABR.pdf>.

63-Laurence C .,(2003). Spectrométrie de masse Centre régional de spectrométrie de masse de Marseille. Faculté des sciences et techniques de saint Jérôme-Aix-Marseille III . 2 p.

64-Kantati YT.,(2011). Détection des résidus d'antibiotiques dans les viandes de bovins prélevées aux abattoirs de Dakar. Thèse master : Produits d'origine animale. l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine vétérinaires (EISMV) de Dakar , 49 P.

65-Laurent C.,(1974).Conservation des produits d'origine animale en pays chauds.2ème édition .Ed: presses universitaires de France, paris .154 p.

66-Laurentie M , Sanders P.,(2002). Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait . Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, 2002. Vol. 15 :197-201.

67-Lavallaz P, Délétroz R ., (1994). Chromatographie . 1-14 p. [en ligne](page consultée le 27/12/2013).<http://www.etudier.com/dissertations/Chromatographie/224110.html>.

68-Le Bihan JY, Le masson JP., (2008). Chromatographie liquide haute performance ou H.P.L.C. [en ligne](page consultée le 27/12/2013).

<http://www.jflemen.iutlan.univ-rennes1.fr/chimie/chimie1/chromato.htm>

69-Licht T R C ,Krogfelt K A ,Molin S., (1999). "Plasmid transfer in the animal intestine and other dynamic bacterial populations: the role of community structure and environment." Microbiology .vol.145(9): 2615-2622.

70-Lawrie R A .,(1975). Chemical and Biochemical Constitution of Musclein : Lawrie's Meat Science. 2nd .Ed. Pergamon Press, Oxford, NY . 70-123 P.

71-Lawrie RA.,(1998).Chemical and Biochemical Constitution of Muscle and The Conversion of Muscle : Lawrie's Meat Science. 6th Ed. WoodheadPublishing , England. 58-94 P.

72-Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR) ., 2010.

73- Maghuin Rogister G .,(2001). Résidus et contaminants des denrées alimentaires : 25 ans de progrès dans leur analyse I. Evolution de la stratégie de contrôle Ann. Méd. Vét., 2005.Vol.149:183-187.[en ligne](page consultée le 10/10/2013).

http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2005_149_4_01.pdf.

74-Maghuin rogister G , Janosi A , Helbo V, Van peteghemC , Sanders E , Van eekhout N, Cornelis M .et Jouret M .(2001).Stratégie intégrée d'analyse qualitative et quantitative des résidus de substances Antimicrobiennes dans les denrées alimentaires. Services scientifiques du premier Ministre Affaires scientifiques, techniques et culturelles(SSTC) Rapport Final SSTC v10.doc (3-4, 64-66) p.[en ligne](page consultée le 25/01/2014).

http://www.belspo.be/belspo/organisation/.../Rnp035a1_fr.pdf.

75-Messai A ., (2006). Analyse Critique Des Pratiques De L'antibiothérapie En Elevages Avicoles . Thèse magister en médecine vétérinaire : Aviculture et pathologie aviaire . Constantine : université Mentouri , EL Khroub , 133 P.

76-Milhaud G ., (1978). L'utilisation rationnelle des médicaments vétérinaires et le temps d'attente . Rev. Méd .Vét , 1978. École vétérinaire d'Alfort (France).Vol. 154(2) :177-185.

77-Ndayisenga F., (2009) . analyse de la distribution et de la qualité des médicaments vétérinaires au Rwanda. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire . Sénégal : Faculté de Médecine et de Pharmacie et d'Odontostomatologie de Dakar , 127 P.

78-Ndiaye M L .,(2002). Contribution a l'étude de la contamination microbiologique de la viande de volailles. Mémoire de DEUA, Faculté des sciences et techniques institutde technologie nucléaire appliquée : Université CheikhAntaDiop deDakar. 2-4 p.

79-Niyibizi B., (2012) .Etude préliminaire sur l'utilisation des antibiotiques dans les élevages de poules pondeuses de la région de Dakar et la présence de résidus d'antibiotiques dans les oeufs. Thèse master : Produits d'Origine Animale . Sénégal: Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar , 43 P.

80-Organisation Internationale des Employeurs (OIE) .,(2010).Code sanitaire pour les animaux terrestres, Dix- neuvième .Ed. ISBN.(OMSA). 509 p.

81-Ouali A .,(1990). Meat tenderization: possible causes and mecanisms. A review. Journal of Muscle Foods. Vol. 1(2) :129 -165.

Références bibliographique

82-Pearson AM , Young RB ., (1989). Composition and Structure of Skeletal Muscle. in Muscle and Meat Biochemistry. Academic Press, Inc. London. 235- 265 P.

83-Perrin-Guyomard A , Poul J M , Corpet DE, Sanders P, Fernandez AH et Bartholomew M .,(2005) . Impact of residual and therapeutic doses of ciprofloxacin in the human-flora-associated mice .model Regulatory Toxicology and Pharmacology ,2005.Vol .42 (2):151-160.

84-Petkewich R., (2002). "Mercury pollution may contribute to antibiotic resistance."

Environmental Science &Technology.vol. 36(15): 310-311.

85-Pinault L ., (2001) .Limites maximales de résidus (LMR) . Ed : Le Point Vétérinaire, Paris. 1-8 p .

86-PopelkaP,Nagy J, Germuska R ,Marcincak S, Jevinova P.et De Rijk A.,(2005).Comparison of Various Assays Used for Detection of beta-lactam antibiotics in Poultry Meat. Food Additives and Contaminants. Vol. 22(6): 557-562.

87-Reeves PT., (2007). Residues of veterinary drugs at injection .sites Journal of veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2007.Vol. 30(1) : 1-17.

88-Reig M , Toldra F.,(2008) .Veterinary drug residues in meat : Concerns and rapid methods for detection . Méat Science, 2008. Vol.78(1-2) : 60-67.

89-Riana N .etRandrianoM.,(2006). Investigation Sur La Présence De Résidus D'antibiotiques Dans Les Denrées Alimentaires D'origine Aviaire Commercialisées a Antananarivo (Madagascar) : Cas Du Muscle et Du Foie. Thèse de doctorat vétérinaire. Sénégal: Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto -stomatologie de Dakar, 82 P.

90-Rowemagnus D A M., (2001)."Integrans: natural tools for bacterial genome evolution".

CurropinMicrobiol.vol. 4(5): 565-569.

91-Sachot D , Puyt JD ., (2001). Les différents calculs du temps d'attente. Rev : le point vétérinaire, Janvier-Février 2001.Vol. 18(212) : 48-51.

92-Salghi R., (2004). Cours d'analyses physico-chimiques des denrées alimentaires II. GPEE, ENSA Agadir. Ecole Nationale des Sciences Appliquées d'Agadir.7p.[en ligne](page consultée le 14/10/2013).

<http://dhaouadiramzi.e-monsite.com/medias/files/analysephysico-chimie.pdf>.

Références bibliographique

- 93-Salvini S, Parpinel M , Gnagnarella P, Maisonneuve p, Turrini A ., (1998). Baccadati dicomposizione degli alimenti per studiepidemiologici . in :Italia. Ed. IstitutoSuperiore di Oncologia . 560 p.
- 94-Sanders P.,(2005). L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, 2005.Vol. 158(2) :139-145.
- 95-Sanders P , Gicquel M , Humbert F , Perrin Guyomard A .et Salvat G.,(2002). Plan de surveillance de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries indicatrices isolées de la flore intestinale des porcs et de la volaille 1999-2001 . Bull. Acad. Vét. de France, 2002.Vol. 155: 267-276.
- 96-Scippo ML ., (2008). Technologie, sécurité et qualité des aliments introduction a la qualité et la sécurité des aliments . Thèse master en médecine vétérinaire : aspects chimiques. Contrôle des résidus et des médicaments vétérinaires. Université de Liège , faculté de médecine vétérinaire, 2-36 P.
- 97-Scippo ML , Maghuin Rogister G.,(2006). Résidus et contaminants des denrées alimentaires : 25 ans de progrès dans leur analyse. Méthodes biologiques de dépistage Ann. Méd. Vét., 2006 . 125-129 p.[en ligne](page consultée le 10/02/2014).
http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2006_150_2_03.pdf
- 98-Stoltz R .,(2008). Les Résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale : évaluation et maîtrise de ce danger . Thèse de doctorat vétérinaire. Lyon : université Claude Bernard à (Médecine - Pharmacie) , 152 P.
- 99-Tao SH .etPoumeyrol M.,(1985). Méthodes de détection des antibiotiques dans les viandes par électrophorèse . Rev. Méd. Vét , 1985. Vol.161(5) : 457- 463.
- 100 -Teale CJ ., (2002) . Antimicrobial resistance and the food chaine . Journal of AppliedMicrobiology , 2002. Vol. 92 : 85-89.
- 101-Truchot E ., (1979). Principales sources de protéines alimentaire et procédés d'obtention . Ed. APRIA, n°23 , Paris . 19 p.
- 102-Zeghilet N., (2009). optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans la viande blanche par chromatographie liquide haute performance (HPLC).Thèse magister en médecine vétérinaire : surveillance de la chaîne alimentaire de la filière viande . Constantine : Université Mentouri , EL Khroub , 181 P .

Annexe 1 :

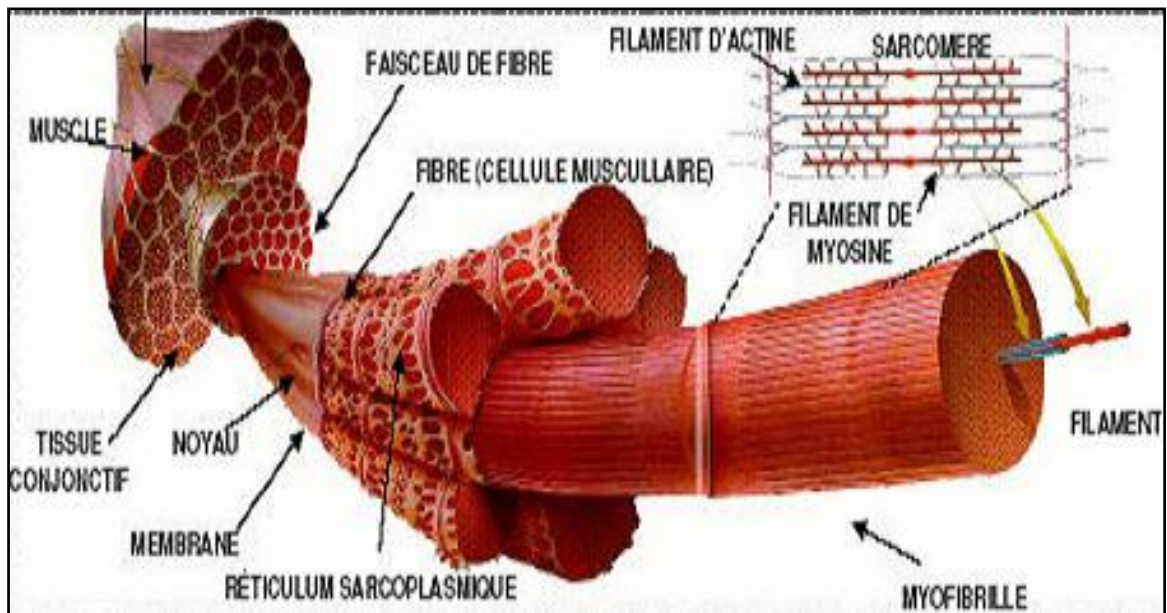


Figure n° 19: Structure du muscle

Annexe 2:

Tableau n° 14: Mécanismes de résistance aux antibiotiques.

Catégories	Mécanismes	Familles concernées
Inaccessibilité à la cible "blindage"	Système actif d'efflux hors de la cellule	Tétracyclines, macrolides, phénicolés, quinolones, bêta-lactamines
	Diminution de la perméabilité	Phénicolés, tétracyclines
Inactivation	Inactivation enzymatique de l'antibiotique	bêta-lactamases, estérases (macrolides), phosphorylases (aminosides, macrolides), acétyltransférases(chloramphénicol)
Esquive ou camouflage	Modification /protection de la cible (par mutation ou voie enzymatique) Court-circuit de voie métabolique utilisée	Triméthoprim-sulfamides, tétracyclines, macrolides, bêta-lactamines, fluor quinolones

Annexe 3 :

Tableau n° 15: Limites maximales résiduelles (LMR) des antibiotiques exprimées en µg/kg ou ppb.

Substances avec LMR définitives							
Substances	Espèces	Muscle	Foie	Rein	Graisse	Lait	Œuf
Benzylpénicilline	Toutes	50	50	50	50	4	
Nafcilline	Bovins	300	300	300	300	30	
Ampicilline	Toutes	50	50	50	50	4	
Oxacilline	Toutes	300	300	300	300	30	
Cefquinome	Bovins	50	100	200	50	20	
	porcs, équidés	50	100	200	50		
Ceftiofur	Bovins	1000	200 0	6000	2000	100	
Doxycycline	Bovins, porc, volaille	100	300	600	300		
Florfénicol	Bovins, ovins, caprins	200	300 0	300	500		
	Porc	300	200 0	500	200		
	Poulet	100	250 0	750			
	Poisons	1000			200		
	Toutesautres	100	200	300			
Thiamphénicol	Bovins, poulet	50	50	50	50		
Erythromycine	Bovins	200	200	200	200	40	
	Ovins, Porc	200	200	200	200		
	Poulet	200	200	200	200		150
Spiramycine	Bovins	200	300	300	300	200	
	Porc	250	200 0	1000			
	Poulet	200	400				
Tylosine	Bovins	100	100	100	100	50	
	Porc	100	100	100	100		

	Volaille	100	100	100	100		200
Tilmicosine	Bovins, Ovins	50	100 0	1000	50	50	
	Porc, Lapin	50	100 0	1000	50		
	Poulet	75	100 0	250	75		
Tulathromycine	Bovins, Porcins		300 0	3000	100		
Lincomycine	Toutes	100	500	1500	50	150	50
Tiamuline	Porc	100	500		100		1000
	Poulet	100	100 0		100		
	Dinde	100	300				
Valnémuline	Porc	50	500	100			
Sulfamides	Toutes	100	100	100	100	100	
Baquiloprime	Bovins		300	150	10	30	
	Porc		50	50	40		
Triméthoprime	Bovins	50	50	50	50	50	
	Porc, Volailles	50	50	50	50		
	Poissons	50					
	Equins	100	100	100	100		
Acideoxolinique	Porc	100	150	150	50		
	Poulet	100	150	150	50		
	Poissons	100					
Fluméquine	Bovins	200	500	1500	300	50	
	Ovins, Porc	200	500	1500	300		
	Poulet, Dinde	400	800	1000	250		
	Salmonidés	600					

Résumé

Les résidus des antibiotiques dans les viandes blanches sont les traces de traitements antimicrobiens antécédents dont le délai d'attente, la dose, la durée de traitement ou les modalités d'injection n'ont pas été respectées. La présence des antibiotiques dans la viande et de leurs résidus ou leurs produits de dégradation peuvent entraîner des risques de différentes natures pour les consommateurs :

- des modifications de la flore intestinale.
- des effets toxiques ou allergènes.
- la sélection des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques.

De ce fait, il est indispensable de recourir à des méthodes fiables pour la détection et la quantification de ces résidus afin de protéger la santé du consommateur algériens.

Il y a actuellement peu d'informations sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes proposées à la vente. Cette absence de connaissances nécessite des recherches dont l'objectif est d'établir une première base d'informations et de participer à la sensibilisation des professionnels et des pouvoirs publics sur ce problème encore méconnu.

Mots clés: -Viande blanche - Résidus des antibiotiques - Méthodes de détection- HPLC.

الملخص

بقايا المضادات الحيوية في اللحوم البيضاء ناتجة عن العلاج المضاد للميكروبات السابقة التي منها مدة الانتظار، الجرعة، مدة العلاج أو طريقة الحقن الغير محترمة .

وجود المضادات الحيوية وبقاياها في اللحم أو نواتج هدمها تؤدي إلى مخاطر ذات طبيعة مختلفة للمستهلك :

- تغيرات على مستوى البكتيريا المعوية.

- تأثيرات سامة أو إحداث حساسية.

- تنتج مقاوميه للمضادات الحيوية من طرف البكتيريا الممرضة.

ولذلك وجب اللجوء لطرق مختلفة لكشف وتكميم هذه البقايا، وذلك لحماية صحة المستهلك الجزائري.

في وقتنا الحالي يوجد الكثير من المعلومات المتعلقة بوجود بقايا المضادات الحيوية في اللحوم المعروضة للبيع، غياب هذه المعلومات تطلب وجود بحوث الهدف منها وضع معلومات قاعدية والمشاركة في التحسيس الوظيفي والسلطات المعنية لهذا المشكل.

الكلمات المفتاحية: - اللحوم البيضاء - بقايا المضادات الحيوية - الكشف عن الأساليب - جهاز التحليل الغروماتوغرافي ذو الضغط العالي.

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumés

Liste des abréviations

Introduction générale

Annexe

Références

conclusion

CHAPITRE I

LA VIANDE BLANCHE

CHAPITRE II

LES ANTIBIOTIQUES EN MEDECINE VETERINAIRE

CHAPITRE III

LES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LA VIANDE BLANCHE

CHAPITRE IV

**LES METHODES DE DETECTION ET
DE QUANTIFICATION DES RESIDUS
DES ANTIBIOTIQUES DANS VIANDE
BLANCHE**